

SCUOLA DI INGEGNERIA E ARCHITETTURA

CAMPUS DI CESENA

DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA INDUSTRIALE

CORSO DI LAUREA TRIENNALE IN INGEGNERIA BIOMEDICA

Titolo dell'elaborato:

**CARATTERIZZAZIONE BIOMECCANICA E CONFRONTO DELLA
VALUTAZIONE CLINICA DI STABILITÀ SPINALE IN CASO DI
VERTEBRE CON METASTASI**

Tesi di laurea in:

Biomateriali e Comportamento Meccanico dei Materiali (C.I.)

Relatore:

Chiar.mo Prof. Luca Cristofolini

Candidato:

Mara Marciante

Correlatore:

Dott. Ing. Marco Palanca

Sessione II

Anno accademico 2018/2019

Indice

<i>Sommario.....</i>	<i>pag. 5</i>
<i>Abstract</i>	<i>pag. 6</i>

CAPITOLO I

Introduzione

<i>1.1 Origine del problema.....</i>	<i>pag.7</i>
<i>1.2 Approccio clinico del problema delle metastasi spinali</i>	<i>pag. 11</i>
<i>1.3 NOMS.....</i>	<i>pag. 12</i>
<i>1.4 Spinal Instability Neoplastic Score (SINS)</i>	<i>pag. 13</i>
<i>1.4.1 Spine Oncology Study Group (SOGS)</i>	<i>pag. 15</i>
<i>1.5 Approccio ingegneristico al problema delle metastasi spinali</i>	<i>pag. 16</i>
<i>1.6 Uno sguardo alla letteratura</i>	<i>pag. 17</i>
<i>1.6.1 Analisi computazionale</i>	<i>pag. 17</i>
<i>1.6.2 Analisi sperimentale</i>	<i>pag. 19</i>
<i>1.6.3 Analisi sperimentale e computazionale</i>	<i>pag. 20</i>
<i>1.6.4 Analisi radiografica</i>	<i>pag. 21</i>
<i>1.7 Ipotesi</i>	<i>pag. 22</i>
<i>1.8 Scopo</i>	<i>pag. 22</i>

CAPITOLO II

Materiali e Metodi

<i>2.1 Descrizione dei provini</i>	<i>pag. 23</i>
<i>2.2 Computed Tomography (CT scan)</i>	<i>pag. 23</i>
<i>2.3 Determinazione del SINS</i>	<i>pag. 24</i>
<i>2.4 Preparazione provini</i>	<i>pag. 27</i>
<i>2.5 Allineamento</i>	<i>pag. 28</i>
<i>2.6 Preparazione alle prove meccaniche</i>	<i>pag. 31</i>
<i>2.6.1 Digital Imaging Correlation (DIC).....</i>	<i>pag. 31</i>

2.6.2 Speckle pattern	pag. 33
2.7 Test Meccanici	pag. 35
2.8 Metrica	pag. 37

CAPITOLO III

Risultati

3.1 Analisi qualitativa	pag. 39
3.2 Analisi quantitativa	pag. 45
3.3 Confronto tra i valori clinici e i valori ingegneristici	pag. 51

CAPITOLO IV

Discussione	pag. 55
--------------------------	---------

CAPITOLO V

Conclusioni	pag. 59
Allegato A	pag. 61
Bibliografia	pag. 65
Ringraziamenti	pag. 69

Sommario

Introduzione: La colonna vertebrale è il sito osseo più comune per la deposizione di metastasi che, a loro volta, partecipano alla determinazione della instabilità spinale. Attualmente la valutazione clinica dei pazienti ad alto rischio di frattura, quindi la scelta verso una possibile stabilizzazione chirurgica, si basa sullo Spinal Instability Neoplastic Score (SINS), un protocollo che definisce una classificazione del grado di instabilità neoplastica considerando una scala da 1 a 18, con instabilità crescente. Il SINS si rivela però incompleto, mancante di chiare linee guida nel range di SINS “indeterminato” (6-12). È stato ipotizzato dunque, che il rischio di frattura in corrispondenza di un SINS indeterminato (6-12), possa essere quantificato da parametri biomeccanici dettati da prove sperimentali. Il progetto si propone l’obiettivo di eseguire una caratterizzazione meccanica che mostri lo stato di sollecitazione della vertebra con metastasi rispetto al suo controllo adiacente e a confrontare i risultati ottenuti dalle caratterizzazioni meccaniche con gli score inerenti al protocollo clinico SINS.

Materiali e Metodi: Sono stati considerati nove segmenti spinali. Ciascun segmento presentava almeno una, al massimo tre, vertebre metastatiche classificate come “indeterminate” dal SINS ed al più una vertebra sana di controllo. I tratti vertebrali sono stati caricati in presso-flessione sotto tre condizioni di carico: 0.5 BW, 1 BW e 1.5 BW. Mediante la Digital Imaging Correlation (DIC) sono state ottenute le mappe di deformazioni della superficie anteriore del corpo vertebrale, per ciascun provino, nelle tre diverse condizioni di carico. È stata quindi fatta un’analisi qualitativa e quantitativa e correlati i parametri meccanici con i valori del SINS.

Risultati: Le vertebre di controllo hanno manifestato una mappa di deformazione omogenea e medie di deformazioni contenute (il valore di deformazione media raggiunge in compressione un valore di $-2600 \mu\epsilon \pm 200$). Al contrario, le vertebre lesionate, hanno mostrato picchi di deformazioni in prossimità delle lesioni metastatiche e medie di deformazioni considerevolmente più elevate rispetto ai controlli (il valore di deformazione media raggiunge in compressione un valore di $-9530 \mu\epsilon \pm 170$). Inoltre, la correlazione tra risultati sperimentali ingegneristici e SINS è risultata molto bassa.

Conclusioni: Le mappe di deformazioni a tutto campo e il confronto tra i valori ingegneristici e clinici hanno portato ad evidenziare il limitato potere predittivo del SINS in termini di stabilità spinale in quei casi indeterminati. Questo studio ha incoraggiato a rivalutare i parametri che definiscono il SINS e integrarli con quelli biomeccanici.

Abstract

Introduction: Backbone is the most common site of metastases and the vertebra's risk of fracture is caused even by metastatic lesions. Currently clinical assessment of patients at high risk of fracture and the surgical stabilization choice, are based on the Spinal Instability Neoplastic Score (SINS), that is a neoplastic instability classification with a growing score of instability from 1 to 18. However, SINS is uncompleted, it does not provide clear guidelines in the “indeterminate” cases (6-12). Authors hypothesized that the risk of fracture of “indeterminate” cases can be quantified by biomechanical parameters. The work aims to define a mechanical characterization of the stress state of both the metastatic and the adjacent control vertebrae and to compare the mechanical characterization's results with the SINS scores.

Material and Methods: Nine spinal segments were considered. Each specimen had at most three “indeterminate” metastatic vertebrae and one healthy control vertebra. Furthermore, each specimen was loaded in presso-flexion with 0.5 BW, 1BW and 1.5BW. The Digital Imaging Correlation (DIC) have measured the full-field strain maps on the anterior surface of the vertebral body for every single specimen under the three load conditions. Finally, the DIC has allowed a qualitative and quantitative analysis.

Results: On one hand, the control vertebrae showed homogenous full-field strain maps and low average strains (maximum average strains in compression: $-2600 \mu\epsilon \pm 200$). On the other hand, metastatic vertebrae showed strain peaks closely to metastases and higher average strains than controls (maximum average strains in compression: $-9530 \mu\epsilon \pm 170$). Moreover, poor correlation has found between the SINS and the ratio between metastatic and healthy vertebrae.

Conclusion: In conclusion, the SINS' limits in the “indeterminate” cases were underlined by the full-field strain maps and the comparison between engineering and clinical values. Thus, this work is a starting point for further analysis of the SINS parameters and their integration with the biomechanical ones.

CAPITOLO I

Introduzione

1.1 Origine del problema

Tutti i tumori hanno origine da una cellula. Nei tumori il delicato equilibrio omeostatico, governato dai messaggi chimici inviati da una cellula all'altra e dai geni che si trovano nel DNA, è compromesso. La cellula continua a riprodursi senza freni e vengono meno anche i processi con cui le cellule danneggiate vanno incontro a una morte programmata, detta apoptosi (["https://www.airc.it/cancro/formazioni-tumori/cose-il-cancro/metastasi,"](https://www.airc.it/cancro/formazioni-tumori/cose-il-cancro/metastasi) n.d.).

All'origine di tutti questi fenomeni ci sono alterazioni geniche, dette mutazioni, che, sommandosi l'una all'altra, fanno saltare i meccanismi di controllo. Non basta che sia difettoso un solo meccanismo, ma occorre che più errori si accumulino purché il tumore possa cominciare a svilupparsi. Alcune di queste mutazioni sono ereditarie, mentre altre sono sporadiche e provocate da fattori interni, esterni o dal caso (["https://www.airc.it/cancro/formazioni-tumori/cose-il-cancro/metastasi,"](https://www.airc.it/cancro/formazioni-tumori/cose-il-cancro/metastasi) n.d.).

La capacità di dare metastasi è la caratteristica che contraddistingue un *tumore* maligno rispetto a uno *benigno*. Lo sviluppo di metastasi dipende però da molte variabili che vanno dalle caratteristiche genetiche della malattia, al tipo di organo coinvolto fino alla disponibilità o vicinanza di vie per la disseminazione. Di conseguenza, la capacità di colonizzare altri organi varia notevolmente da tumore a tumore (["https://www.airc.it/cancro/formazioni-tumori/cose-il-cancro/metastasi,"](https://www.airc.it/cancro/formazioni-tumori/cose-il-cancro/metastasi) n.d.).

La *metastasi* è il fenomeno con cui le cellule tumorali si spostano dalla zona in cui si sono formate a un'altra parte del corpo. Infatti, le cellule metastatiche si staccano da un tumore primario, viaggiano nel sangue o nei vasi linfatici e formano un nuovo tumore secondario in altri organi o tessuti. Le cellule tumorali che danno origine a metastasi hanno di solito legami meno stretti tra loro e proprietà che le rendono più adatte al movimento. Più nello specifico è possibile affermare che, il processo di metastatizzazione ossea segue tappe comuni comprendenti varie fasi. Esse coinvolgono la proliferazione cellulare nella sede del focolaio primitivo, la penetrazione nei vasi sanguigni e linfatici, l'ancoraggio alla membrana basale endoteliale di una sede anatomica distante dal focolaio primitivo, l'infiltrazione del parenchima della nuova sede anatomica e la proliferazione (Milano et al., 2010).

Di solito i tumori metastatici mantengono alcune caratteristiche del tumore primario. Per esempio, una metastasi di tumore del seno localizzata nel polmone è costituita da cellule del tumore mammario e non polmonare.

Nello specifico, in condizioni fisiologiche, l'omeostasi ossea presuppone un rimodellamento continuo che permette all'osso di adeguare la propria resistenza all'entità del carico a cui viene sottoposto, di rimodellare la propria forma in relazione alle forze sollecitanti depositando nuova matrice organica e di rimaneggiare la parte usurata. Questo stretto equilibrio, che si viene a perdere in presenza di neoplasie, tra rigenerazione e degradazione dell'osso viene garantito dall'azione sinergica degli osteoblasti e degli osteoclasti, attivati entrambi dagli osteociti in base alla necessità. Gli osteoblasti partecipano direttamente al rimodellamento, gli osteoclasti invece, sono primariamente deputati al riassorbimento osseo (Milano et al., 2010). Dunque, in casi metastatici l'attività degli osteoblasti e osteoclasti sarà mutata e tale variazione definirà la tipologia della metastasi stessa.

Le metastasi, nella maggior parte dei casi, sono tipiche delle fasi più avanzate della progressione del tumore che inizialmente è localizzato, cioè limitato all'organo (o tessuto) dove si è formato, e solo in seguito cresce e colonizza altri distretti dell'organismo. Il 90% delle morti per cancro è dovuta alle metastasi (["https://www.news-medical.net/health/What-is-Metastasis-\(Italian\).aspx,"](https://www.news-medical.net/health/What-is-Metastasis-(Italian).aspx) n.d.).

Le metastasi vengono categorizzate in *osteolitiche* (litiche) o *osteoblastiche* (blastiche) (**Fig. 1a, Fig. 1b**). Questa classificazione rappresenta in realtà due estremi della deregolamentazione del normale processo di rimodellamento osseo in condizioni fisiologiche. Infatti, è possibile riscontrare metastasi *miste*, con caratteristiche intermedie alle precedenti.

Le *metastasi litiche* (**Fig. 1a**) sono caratterizzate dalla mancanza della formazione secondaria del tessuto osseo in risposta alla distruzione ossea e da un rapido assorbimento osseo. È bene precisare che, nelle metastasi osteolitiche la distruzione dell'osso è mediata dagli osteoclasti piuttosto che dalle cellule tumorali. Tuttavia, i fattori responsabili dell'attivazione degli osteoclasti variano a seconda del tumore.

Le *metastasi blastiche* (**Fig. 1b**) invece, sono dettate da un ridotto riassorbimento osseo, con conseguente crescita della densità ossea in tale zona. Questa tipologia metastatica può ridurre il dolore osseo e il rischio di frattura patologica.

La maggior parte dei pazienti con il carcinoma mammario presenta prevalentemente lesioni osteolitiche, nonostante ciò, almeno il 15%-20% di essi ha in maggioranza lesioni osteoblastiche. In contrasto, le lesioni nel carcinoma della prostata sono prevalentemente osteoblastiche (David, 2004).

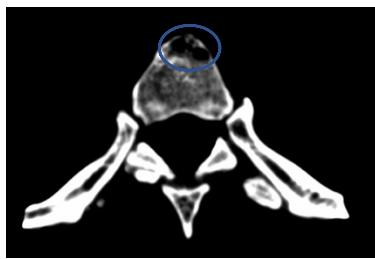


Fig. (1a) Immagine CT di una metastasi Litica.



Fig. (1b) Immagine CT di una vertebra completamente Blastica.

Approssimativamente il 70% dei pazienti affetti da cancro ha evidenze metastatiche al momento della morte (**Fig.2**). La colonna vertebrale è il sito osseo più comune per la deposizione di metastasi, infatti, il coinvolgimento spinale si può verificare fino al 40% dei pazienti soggetti a cancro. Un'evidenza confermata da *Wong et al.*, che in 832 autopsie di pazienti morti per cancro, 300 (il 36%) avevano metastasi spinali (Klimo and Schmidt, n.d.).

Sebbene ogni segmento osseo possa essere interessato dalla presenza di metastasi, la colonna vertebrale *toracica* è la sede più frequentemente colpita (70%), seguita dalla colonna vertebrale *lombare* (20%) ed infine dalla parte *cervicale* (10%). Inoltre, la metà posteriore del corpo vertebrale è il più comune sito d'origine per la definizione metastatica, mentre, la parte anteriore, la lamina e i peduncoli sono coinvolti successivamente (Klimo and Schmidt, n.d.) (**Fig.3**).

Due dei fattori più determinanti della *morbilità* della metastasi sono la *frattura patologica* e la *compressione* del midollo osseo. Essi sono strettamente correlati alla sopravvivenza del paziente soggetto a cancro, in quanto ne riducono significativamente la vita media e la qualità della vita (Tschirhart et al., 2004).

Le *fratture patologiche* ricorrono soprattutto in condizione di carico nelle ossa lunghe, nelle coste e nelle vertebre, con conseguenti patologie da compressione dei nervi spinali (Milano et al., 2010). Inoltre, la predizione del rischio di frattura con un intervento precoce, ha una importanza clinica significativa per la prevenzione della frattura vertebrale in pazienti ad alto rischio (DeWald et al., 1985) (Klimo and Schmidt, n.d.).

Le *compressioni midollari* rappresentano invece, una emergenza medica e comportano deficit sensitivi o disturbi motori ovvero alterazioni del sistema nervoso autonomo con ritenzione urinaria, stipsi ed impotenza (Milano et al., 2010). Più nello specifico, la compressione del midollo spinale, definita dalle metastasi epidurali, si può verificare con una percentuale compresa tra il 5% - 10% in pazienti con tumore, mentre, può alzarsi fino al 40% in pazienti con preesistente metastasi ossea non spinale. Inoltre, dei soggetti con malattie ossee spinali, il 10%-20% sviluppa una compressione

sintomatica del cordone spinale; i risultati hanno riportato che vi sono oltre 25.000 casi ogni anno, e il numero si prospetta crescere (Klimo and Schmidt, n.d.) (**Fig.2**).

Solitamente, il 50% delle metastasi nasce da uno dei tre seguenti tumori primari: cancro alla prostata, cancro al seno e cancro al polmone. In più, è possibile che essi possano essere seguiti da altre tipologie di tumori, come: tumore ai reni, tumore gastrointestinale, tumore alla tiroide, sarcoma, tumori maligni reticolari (linfoma e mieloma multiplo) (Botelho et al., 2013).

Ulteriori dati statistici riportano che, il cancro alla prostata, come il cancro al seno, il melanoma e il cancro ai polmoni, comunemente definiscono le *metastasi spinali*, rispettivamente nel 90.5%, 74.3%, 54.5% e 44.9% dei pazienti (**Fig.4**). Tuttavia, la frequenza di un deficit neurologico, come risultato di una compressione epidurale spinale varia in relazione al sito del tumore primario nel seguente modo: 22% con il cancro al seno, il 15% con il cancro ai polmoni e il 10% con il cancro alla prostata.

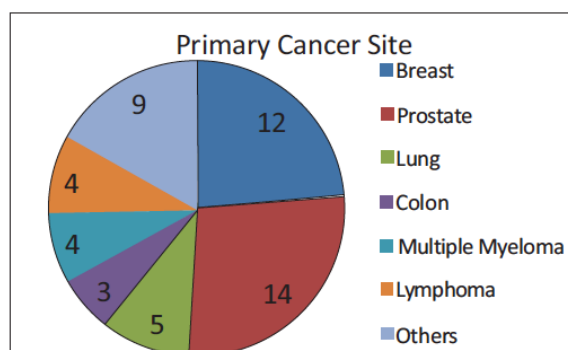


Fig. (4) Diagramma relativo al numero di pazienti con metastasi provenienti da tumore primario.

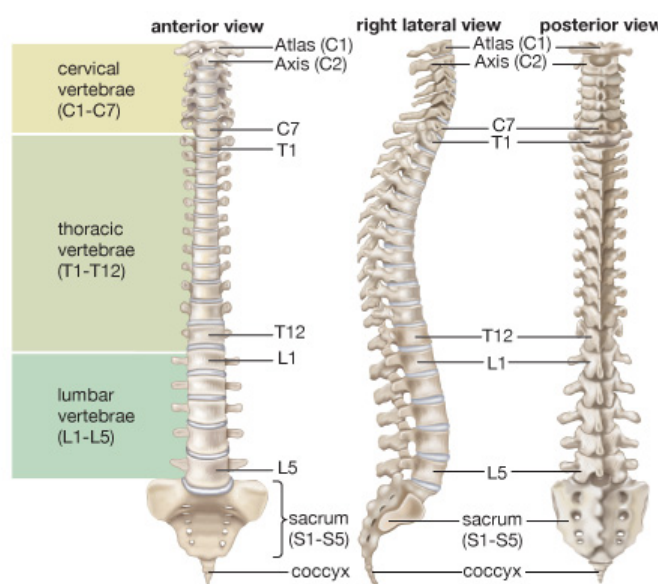
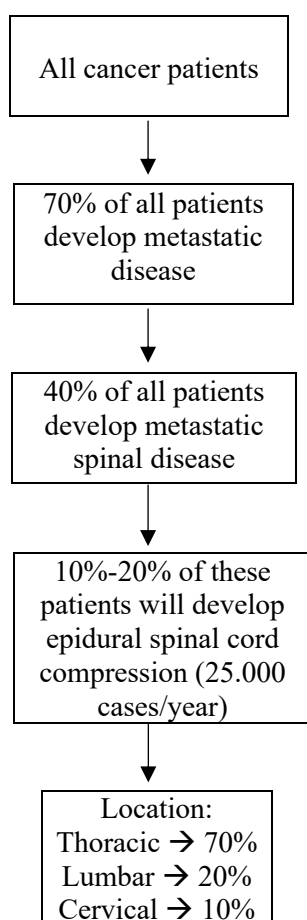


Fig. (3) Anatomia colonna vertebrale. Percentuale zone colpite da metastasi:

- Regione toracica → 70%
- Regione lombare → 20%
- Regione cervicale → 10%

Fig. (2) Diagramma che riporta la proporzione dei pazienti con metastasi spinali e con compressione epidurale del cordone spinale e la distribuzione del coinvolgimento nelle regioni spinali.

1.2 Approccio clinico del problema delle metastasi spinali

Attualmente le metastasi ossee sono trattate con un *approccio multidisciplinare* che integra sia la radiologia e l'oncologia medica, che la chirurgia e la radiologia interventistica. Il trattamento delle metastasi spinali è riconosciuto come trattamento *palliativo*, associato ai seguenti obiettivi: alleviare il dolore risentito dal paziente, mantenere o recuperare la funzione neurologica, permettere un controllo locale e durevole del tumore, garantire la stabilità spinale, e soprattutto migliorare la qualità di vita del paziente. Negli ultimi dieci anni, il trattamento metastatico è evoluto grazie all'introduzione di nuove tecnologie sia in campo chirurgico che radioterapeutico (Fisher et al., 2010). Sono di seguito descritte le caratteristiche principali dei trattamenti attualmente in uso.

La *chemioterapia* consiste nella somministrazione di una o più sostanze chimiche capaci di uccidere le cellule tumorali durante il loro processo di replicazione. L'associazione di sostanze diverse consente di aggredire le cellule tumorali colpendo contemporaneamente i diversi meccanismi essenziali per la loro replicazione. Si ostacola così la loro capacità di evolvere verso forme resistenti alle cure (["https://www.airc.it/cancro/formazioni-tumori/cose-il-cancro/metastasi,"](https://www.airc.it/cancro/formazioni-tumori/cose-il-cancro/metastasi) n.d.).

Per quanto riguarda la *radioterapia*, è possibile affermare che, essa abbia visto un notevole sviluppo negli anni e come riportano gli studi più recenti, la percentuale di successo è aumentata circa fino al 70%. Le radiazioni terapeutiche sono generalmente l'unica opzione per i pazienti che hanno tumori radiosensibili, che non possono tollerare un intervento chirurgico, o che hanno una prognosi di sopravvivenza scarsa. La radioterapia, come la chemioterapia, può ridurre il dolore, non è però efficace per la prevenzione imminente del collasso del corpo vertebrale. Per questo, Regine et al. ha concluso che quando i pazienti soddisfano i criteri clinici per la chirurgia, il ruolo della radioterapia è quello della terapia adiuvante (Georgy, 2008).

La *vertebroplastica* d'altra parte è largamente considerata per ridurre il rischio di frattura in compressione del corpo vertebrale. La frattura in compressione del corpo vertebrale è generata da più possibili cause, tra cui tumori primari e metastasi spinali, spesso però anche l'osteoporosi risulta esserne l'origine. La vertebroplastica è una procedura minimamente invasiva che prevede l'iniezione di cemento osseo nel corpo vertebrale fratturato, in modo da diminuire il dolore e aumentarne la stabilità. Il cemento osseo più comunemente utilizzato è il polimetilmetacrilato (PMMA). Relativamente alla *cifoplastica*, essa è una procedura simile alla precedente, ma utilizza un palloncino gonfiabile in modo tale da ridurre la frattura e creare uno spazio che permette di eseguire una iniezione più sicura all'interno del corpo vertebrale fratturato (["https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3773069/,"](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3773069/) n.d.). I pazienti solitamente in 4-6 settimane risentono di un miglioramento dei sintomi.

Il *trattamento chirurgico* è principalmente basato sul ripristinare la *stabilità spinale* e sui fattori specifici del paziente, che includono: la salute del paziente, l'istologia del tumore e la prognosi. Dato che, l'instabilità spinale non è tuttora ben definita in letteratura, non è possibile riscontrare precise linee guida che permettano di stabilire il rischio di instabilità spinale dovuto a metastasi spinali. I principali obiettivi della chirurgia includono la decompressione radicale del nervo, la stabilizzazione e la ricostruzione della colonna vertebrale (Georgy, 2008).

1.3 NOMS

Da quindici anni a questa parte, il team che si occupa del settore spinale al Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (MSKCC) ha incrementato e utilizzato un preciso quadro decisionale per affrontare i problemi metastatici alla colonna vertebrale, chiamato **NOMS**. Viene denominato NOMS date le sue *quattro* valutazioni fondamentali: *neurologica*, *oncologica*, *meccanica* e *sistemica* della malattia. Il NOMS si propone come metodo per determinare il corretto utilizzo della radioterapia, della chirurgia e/o della terapia sistemica. Inoltre, grazie al NOMS è possibile incrementare, quindi migliorare i piani di trattamento per i singoli pazienti e favorire l'analisi dei risultati in tutte le istituzioni sanitarie.

Per quanto riguarda il nostro studio, risulta essere di particolare importanza l'*instabilità meccanica*. L'instabilità meccanica descritta nel NOMS è prettamente connessa alle fratture patologiche spinali dove, le considerazioni sul trattamento includono: la possibile applicazione di un tutore, il posizionamento di cemento percutaneo o di una vite di potenziamento a livello dei peduncoli, oppure la necessità della chirurgia aperta.

Inoltre, secondo il NOMS, l'instabilità meccanica appare indipendente dal grado di compressione epidurale del midollo spinale e dalla radiosensibilità del tumore. Si ricorda che, le radiazioni, sebbene efficaci per il controllo locale del tumore, non hanno alcun impatto sulla stabilità spinale. L'instabilità meccanica serve da indicatore per la chirurgia, senza però avere alcuna correlazione con la valutazione neurologica o oncologica (Laufer et al., 2013).

1.4 Spinal Instability Neoplastic Score (SINS)

Per aiutare i clinici nella diagnosi della instabilità spinale dovuta a lesione neoplastiche, il Spine Oncology Study Group (SOSG) ha ideato il Spinal Instability Neoplastic Score (SINS), una classificazione del grado di instabilità neoplastica basata su una scala da 1 a 18, con instabilità crescente (**Fig.5**). Il SINS si presenta come uno schema di classificazione che include sei parametri di valutazione: la posizione metastatica, il dolore, l'allineamento, l'osteolisi, il collasso del corpo vertebrale e il coinvolgimento degli elementi posteriori. Questa classificazione presenta un'alta affidabilità inter ed intra osservatore. Le lesioni con un SINS basso (0 - 6) sono generalmente *stabili* e non richiedono una stabilizzazione chirurgica mentre, un SINS elevato (13-18) corrisponde ad una consistente *instabilità* e prevede la necessità di stabilizzazione chirurgica per ripristinare la colonna vertebrale. Di notevole interesse sono i tumori categorizzati con SINS *intermedio* (6-12), i più frequenti, i quali richiedono ulteriore valutazione per determinare la necessità di un intervento chirurgico (Laufer et al., 2013). Se tale classificazione è efficiente per i casi estremi, mancano ancora delle chiare linee guida per i casi con stabilità indeterminata.

Il SINS è definito dai sei seguenti componenti:

- **Posizione della metastasi:**

La posizione della metastasi rispetto alla colonna vertebrale può avere diversi effetti. Infatti, più la metastasi avviene in un tratto critico (giunzionale) più la stabilità spinale può essere compromessa. Per questa componente si considera che, i pazienti con metastasi in segmenti spinali “rigidi”, quindi non giunzionali, sono associati ad uno score pari a 0 mentre, le metastasi localizzate in segmenti “semirigidi”, ovvero segmenti concatenati con la cassa toracica, quindi tra T3 e T10, vengono correlate ad uno score uguale ad 1. Per quanto riguarda i pazienti con metastasi in segmenti “mobili” (non giunzionali e non concatenati con la cavità toracica o la pelvi), è possibile ritrovare un punteggio di 2. I tratti di questa casistica sono tra C3 e C6 e tra L2 ed L4. Infine, le metastasi localizzate in punti giunzionali vengono classificate con punteggio pari a 3, vengono inclusi i tratti occipito-cervicale (C0-C2), cervico-toracico (C7-T12), toraco-lombare (T11-L1) e lombo-sacrale (L5-S1) (**Tabella 1**).

- **Dolore meccanico:**

Il SINS considera anche una componente *soggettiva* ovvero, il dolore risentito dal paziente dovuto alla neoplasia. Il grado di dolore quindi, è considerato rilevante per la classificazione della stabilità spinale in questo protocollo: più alto è il dolore risentito, più alto sarà il punteggio di questo parametro. Difatti, ai pazienti con assenza di dolore meccanico vengono associati uno score uguale ad 1. Mentre, i pazienti che soffrono in condizioni di moto, in

posizione verticale, o in caso di carico meccanico sulla colonna vertebrale ricevono un punteggio uguale a 3 (**Tabella 1**).

- ***Qualità della lesione ossea:***

Secondo il protocollo clinico, la tipologia metastatica influenza considerevolmente la stabilità spinale in particolare la lesione litica la quale, al contrario dell'addensamento osseo caratterizzante la lesione blastica, è associata ad una vera e propria mancanza del tessuto osseo. È infatti possibile ritrovare valori diversi per ciascuna famiglia metastatica: i pazienti con lesioni blastiche ricevono un punteggio uguale ad 1, mentre coloro che presentano lesioni litiche sono associati ad uno score di 2 (**Tabella 1**). La Computed Tomography (CT) scan, è la modalità migliore per definire questa caratteristica.

- ***Allineamento spinale:***

L'allineamento fisiologico della colonna vertebrale è un fattore da non trascurare, in quanto esso può essere conservativo rispetto all'instabilità. Il SINS per i pazienti con deformità sul piano sagittale o coronale considera un punteggio uguale a 2. Mentre, i pazienti con sublussazione o traslazione (scorrimento di una vertebra sull'altra) ricevono uno score di 4. La sublussazione e la traslazione sono fattori caratterizzanti la instabilità spinale. Infine, pazienti con allineamento normale hanno uno score di 0 (**Tabella 1**).

- ***Collasso del corpo vertebrale:***

Se la vertebra considera già un principio di collasso, segue che la stabilità spinale è già compromessa. Inoltre, è bene precisare che il coinvolgimento della parte anteriore e mediana della colonna vertebrale nei siti metastatici è determinante per questa componente. I pazienti senza alcun coinvolgimento metastatico del corpo vertebrale ricevono un punteggio pari a 0, coloro caratterizzati da un coinvolgimento maggiore del 50% del complessivo corpo vertebrale senza presentare collasso sono associati a uno score di 1. Mentre, i soggetti con coinvolgimento inferiore del 50% con collasso hanno punteggio di 2, infine, situazioni in cui il coinvolgimento considera più del 50% con collasso ricevono un punteggio uguale a 3 (**Tabella 1**).

- ***Coinvolgimento degli elementi spinali postero-laterale:***

Gli elementi posteriori hanno un ruolo fondamentale da un punto di vista biomeccanico per garantire la stabilità spinale. Se è compromesso l'arco posteriore, la colonna sarà sicuramente non stabile. Uno score di 0 è associato ai pazienti senza coinvolgimento tumorale degli elementi posteriori, mentre, coloro che presentano un coinvolgimento posteriore unilaterale hanno uno score di 1 e quelli con coinvolgimento bilaterale dei peduncoli e/o delle giunzioni costo-vertebrali di 3 (Fisher et al., 2010) (**Tabella 1**).

Tabella (1) *Spinal Instability Neoplastic Score (SINS).*

	Score
Location	
Junctional (occiput-C2, C7-T2, T11-L1, L5-S1)	3
Mobile spine (C3-C6, L2-L4)	2
Semirigid (T3-T10)	1
Rigid (S2-S5)	0
Pain	
Yes	3
Occasional pain but not mechanical	1
Pain-free lesion	0
Bone lesion	
Lytic	2
Mixed (lytic/blastic)	1
Blastic	0
Radiographic spinal alignment	
Subluxation/translation present	4
De novo deformity (kyphosis/scoliosis)	2
Normal alignment	0
Vertebral body collapse	
>50% collapse	3
<50% collapse	2
No collapse with >50% body involved	1
None of the above	0
Posterolateral involvement of spinal elements	
Bilateral	3
Unilateral	1
None of the above	0
Total score	
Stable	0–6
Indeterminate	7–12
Unstable	13–18

1.4.1 Spine Oncology Study Group (SOGS)

Il SOGS è un gruppo internazionale di 30 oncologi esperti della colonna vertebrale, provenienti da Nord America, Europa, Sud America e Asia che si incontrano ogni due anni per discutere di ricerca, valutare le migliori prove per le pratiche attuali e formulare studi clinici per far avanzare il campo dell'oncologia della colonna vertebrale (Fisher et al., 2010).

1.5 Approccio ingegneristico al problema delle metastasi spinali

La stabilità della colonna vertebrale in caso di metastasi è campo di studio anche nel settore ingegneristico, infatti, diversi lavori *computazionali* e *sperimentali* si concentrano su tale analisi. Questi lavori hanno verificato come la resistenza della vertebra metastatica sia influenzata dalle caratteristiche della lesione stessa, come: la sua dimensione, la sua localizzazione e il coinvolgimento del guscio corticale.

La rigidità e la resistenza della singola vertebra o del segmento di tre vertebre sono state *sperimentalmente* valutate in compressione e in flessione con lesioni metastatiche reali o riprodotte. Il rischio di frattura per una vertebra metastatica infatti, sembra essere principalmente dovuto ai difetti transcorticali che riducono la resistenza vertebrale e determinano l'inizio e la successiva progressione del suo fallimento. È da evidenziare che, la dimensione e il posizionamento non risultano essere connessi, al più in maniera minimale, al carico che provoca la rottura e al rischio di fallimento.

D'altra parte, è stato riscontrato che, *modelli parametrici* o modelli basati sulla *tomografia computerizzata* (CT) ad *elementi finiti* (FE) possano prevedere gli effetti delle caratteristiche della lesione relativi alla struttura ossea e ai meccanismi di fallimento. Questo approccio computazionale, in disaccordo con i risultati sperimentali, evidenzia che la dimensione e la localizzazione delle metastasi influenzano il rischio della frattura vertebrale.

Dunque:

- Analisi sperimentali → dimensione e localizzazione ***non*** sono correlati al rischio di fallimento.
- Analisi computazione → dimensione e localizzazione ***influenzano*** il rischio di fallimento.

Questo conflitto di ipotesi è causato principalmente da una limitazione delle procedure sperimentali e dalla genericità del modello ad elementi finiti, eccessivamente semplificato. Inoltre, ad oggi manca un'interpretazione accurata e inequivocabile circa gli effetti delle lesioni metastatiche sulla competenza meccanica di una vertebra. Infatti, sono presenti più controversie tra i lavori svolti, queste non permettono una chiara determinazione dei parametri più salienti per la definizione della stabilità spinale in pazienti con metastasi vertebrali.

Tabella (2) La tabella riassume le affermazioni della letteratura, considerando il metodo utilizzato nell'analisi, e i parametri indagati nella predizione del rischio di fallimento. Il verde viene utilizzato per specificare che il dato parametro è risultato rilevante per l'analisi, il rosso invece, che il parametro non è rilevante e infine, il giallo stabilisce che il parametro non è stato oggetto di studio, quindi non è stato analizzato.

REFERENCE	METHODS	PARAMETER INVESTIGATED TO PREDICT FAILURE RISK		
		LESION SIZE	LESION LOCATION	CORTEX INVOLVEMENT
Silva et al., 1993	Experimental	Not Relevant	Not Relevant	Relevant
Taneichi et al., 1997	Radiographic	Relevant	Not Relevant	Not Relevant
Windhagen et al., 1997	Experimental	Not Relevant	Not Relevant	Relevant
Whyne et al., 2001	Numerical	Relevant	Not Analysed.	Not Analysed
Whyne et al., 2003	Experimental + Numerical	Relevant	Not Analysed	Not Analysed
Tschirhart et al., 2004	Numerical	Relevant	Relevant	Not Analysed
Tschirhart et al., 2008	Numerical	Relevant	Relevant	Relevant
Alkalay et al., 2015	Experimental	Not Relevant	Relevant	Relevant
Alkalay et al., 2016	Experimental + Numerical	Not Relevant	Not Relevant	Relevant
M.Palanca, L.Cristofolini et al., 2018	Experimental	Relevant	Not Analysed	Not Analysed

1.6 Uno sguardo alla letteratura

Di seguito verranno riportate alcune affermazioni dalla letteratura utili per comprendere al meglio il conflitto di ipotesi che nega l'affermazione di un'univoca definizione di stabilità spinale meccanica.

1.6.1 Analisi computazionale

Nel 2001 è stato pubblicato online il lavoro di Whyne et al., dove sono stati indagati gli effetti della dimensione della metastasi, delle proprietà tissutali (ossee e tumorali) e del carico in relazione alla resistenza vertebrale. Questa analisi è stata conseguita con l'utilizzo di un *modello bidimensionale assialsimmetrico ad elementi finiti* relativo ad un segmento spinale consistente nella prima vertebra lombare (L1), senza elementi posteriori, e del disco intervertebrale adiacente, in modo tale da

consentire l'inclusione di un tumore situato in posizione centrale nel corpo vertebrale. I risultati di questo studio parametrico suggeriscono che la *dimensione* della metastasi vertebrale e la densità ossea contribuiscono significativamente al rischio di frattura dei pazienti e per questo, dimensione metastatica e densità ossea dovrebbero essere incorporati nelle valutazioni cliniche per la determinazione della stabilità spinale. Wyne et al., con la definizione del modello ad elementi finiti bidimensionale, ha posto solide basi per la determinazione dei successivi modelli tridimensionali (Whyne and Hu, 2001) **(Tabella 2)**.

D'altra parte, Tschirhart et al. (2004) ha condotto uno studio adottando un *modello parametrico poro-elastico ad elementi finiti* con primo obiettivo la quantificazione degli effetti della posizione e della dimensione tumorale sulla stabilità del corpo vertebrale e sul rischio di frattura spinale. I risultati indicano che la *localizzazione* del tumore ha un effetto considerevole sulla stabilità del corpo vertebrale e sul potenziale rischio di frattura, infatti il massimo rigonfiamento vertebrale è stato osservato con presenza del tumore nella parte posteriore del corpo vertebrale, rappresentando dunque un aumento della possibilità di frattura e danneggiamento neurologico. Anche la *dimensione* del tumore è molto importante per la determinazione della stabilità vertebrale. Le dimensioni medio laterali infatti, aumentano anch'esse il rigonfiamento vertebrale (Tschirhart et al., 2004) **(Tabella 2)**.

Tre anni più tardi, Tschirhart et al., si pose un duplice scopo: esaminare le conseguenze che una vertebra toracica, in relazione al suo livello e alla sua geometria, può provocare nella definizione del rischio di frattura vertebrale ed indagare gli effetti sul rischio di frattura provocati dalla compromissione del guscio corticale da parte della metastasi. Tali obiettivi vennero conseguiti attraverso l'utilizzo di un modello ad elementi finiti. L'analisi del livello e della geometria vertebrale è stata valutata su 7 segmenti vertebrali compresi tra T2-T4 e T10-T12. Mentre, per indagare gli effetti causati dalla compromissione del guscio vertebrale, sono stati comparati 4 casistiche transcorticali comprendenti completamente il corpo vertebrale con tumore. I risultati dimostrano che, più le vertebre toraciche si trovano nei livelli superiori, più il rischio di frattura aumenta. Inoltre, le vertebre con lesioni transcorticali hanno una probabilità fino al 30% in meno di provocare l'inizio della frattura. Dunque, è stato infine possibile affermare che, la *dimensione*, la *localizzazione* e il *coinvolgimento corticale* sono tutti parametri determinanti il rischio di frattura (Tschirhart et al., 2007) **(Tabella 2)**.

1.6.2 Analisi sperimentale

Nello studio sperimentale condotto da Silva et al. (1993), gli autori hanno simulato delle lesioni transcorticali ossee (lesioni che coinvolgono sia la zona corticale che quella trabecolare della vertebra) per indagare gli effetti della forza vertebrale in relazione alla localizzazione e alla dimensione della metastasi, al disturbo del peduncolo e al coinvolgimento corticale. Sono state riportate artificialmente lesioni in vertebre toraciche provenienti da 15 spine dorsali e le rimanenti vertebre sono state utilizzate come controlli. Tutte le vertebre vengono testate a fallimento sotto la stessa combinazione di carichi assiali e a flessione. I risultati suggeriscono che la frattura non è fortemente influenzata dalla *posizione* del difetto nel corpo vertebrale né dalla sua *dimensione*, che il coinvolgimento dei peduncoli non aumenta il rischio di frattura, ma che il *coinvolgimento corticale* è un fattore importante per la compromissione della stabilità vertebrale (Silva et al., 1993) (**Tabella 2**).

Anche nell'analisi di Windhagen et al. (1997), sono state simulate lesioni vertebrali, infatti, sono stati ricreati difetti cilindrici per riprodurre metastasi osteolitiche in vertebre toraciche di 20 provini umani di rachide umana, e son stati considerati altri 10 segmenti spinali utilizzati come controllo. Inoltre, sono state testate anche 5 vertebre con vere metastasi. I segmenti spinali sono stati testati fino a rottura con una combinazione di compressione assiale e flessione anteriore. La lineare regressione tra rigidità assiale e il carico di fallimento massimo ha dimostrato un'alta e positiva correlazione, ma non sono state evidenziati legami tra la dimensione del difetto e il carico di fallimento. Non sono da escludere le considerazioni fatte sulle conseguenze relative alla localizzazione del difetto e al coinvolgimento corticale nel fallimento vertebrale. Se la *localizzazione*, come la *dimensione*, risulta essere irrilevante, il *coinvolgimento corticale* prende una posizione considerevole nella determinazione del fallimento vertebrale. L'autore riporta quindi risultati in contrasto con il lavoro di Silva et al. (1993), sottolineando anche che Silva et al. condusse un'analisi fortemente limitata, in quanto testò una singola vertebra e non un segmento (PhD, n.d.) (**Tabella 2**).

Più recentemente, Alkalay et al. (2015) ha perseguito un'analisi *sperimentale* dove sono state considerate 18 vertebre toraciche e lombari umane con difetti osteolitici, esse sono poi state testate considerando carichi a flessione e a compressione, fino al raggiungimento della rottura delle stesse vertebre. Il lavoro è intento a spiegare quali siano le conseguenze provocate dai difetti vertebrali sotto i carichi considerati. L'ipotesi sostenuta da tale studio considera che il fallimento vertebrale è connesso alla presenza delle lesioni osteolitiche. I risultati di questa analisi riportano che la *dimensione* della lesione sia irrilevante nella determinazione del fallimento vertebrale, al contrario,

la *localizzazione* e il *coinvolgimento della corteccia vertebrale* vengono considerati come fattori influenzanti. Inoltre, la forza e la rigidità dei parametri in compressione e flessione risultano essere in debole correlazione, in contrasto con ciò che è riportato da Silva et al., nel 1993 (Alkalay, 2015) **(Tabella 2)**.

Nel 2018 invece, il lavoro riportato sul Journal of Biomechanical Engineering di M. Palanca, L. Cristofolini e G. Barbanti-Bròdano, ha come scopo la valutazione locale della distribuzione delle deformazioni sulla superficie anteriore del corpo vertebrale in dipendenza alla presenza e alla dimensione di una metastasi litica simulata. Nello specifico, l'obiettivo si rivela duplice: lo studio si interessa sia a capire come le concentrazioni di deformazioni in regime elastico possano essere utilizzate per la predizione del sito d'origine del fallimento vertebrale, sia a determinare se possa essere definibile o meno uno specifico modello di deformazioni correlato al fallimento della vertebra con metastasi simulate. L'analisi è stata fatta su cinque segmenti toracici. I segmenti intatti inizialmente sono stati sottoposti a carico di presso-flessione senza il raggiungimento della rottura delle vertebre, successivamente, sono state simulate le metastasi nei tratti spinali, quindi conseguiti nuovamente i test in presso-flessione. La distribuzione delle deformazioni è stata quindi misurata mediante la Digital Image Correlation (DIC) sulla superficie anteriore del corpo vertebrale. I risultati mostrano che, la distribuzione delle deformazioni è dipendente dalla presenza delle lesioni litiche, in particolare dalla loro *dimensione*. Infatti, difetti con volume maggiore del 30% dell'intero corpo vertebrale aumentano in maniera critica le deformazioni sulla superficie anteriore (Palanca et al., 2018) **(Tabella 2)**.

1.6.3 Analisi sperimentale e computazionale

Il lavoro di Whyne et al. (2003) si concentra su uno studio volto alla validazione *sperimentale* di un *modello parametrico tridimensionale ad elementi finiti*, con obiettivo la ricerca della correlazione tra le caratteristiche di una lesione vertebrale e la frattura spinale. Il modello parametrico definito è relativo alla prima vertebra lombare e ai dischi intravertebrali adiacenti, con la presenza di una metastasi tumorale di dimensione variabile. Per la validazione del modello sono stati testati 12 segmenti di cadaveri umani in diverse situazioni: in compressione assiale, in condizione di riposo e in presenza di difetti osteolitici simulati. Sono stati osservati trend coerenti tra i dati sperimentali e le predizioni fornite dal modello. In particolare, i risultati del modello suggeriscono che la *dimensione* del tumore contribuisce in modo notevole all'inizializzazione del rischio di frattura, seguito dal carico applicato e dalla densità ossea **(Tabella 2)**.

Nel 2016, il lavoro di Alkalay et al. ebbe l'obiettivo di stabilire e validare *sperimentalmente* un *modello ad elementi finiti* per cercare condizioni chiare che riescano a definire in modo preciso la stabilità spinale ed indagare gli effetti delle lesioni osteolitiche in posizione toraco-lombare in risposta a carichi di compressione. È stato utilizzato un nuovo sistema per i test meccanici compatibile con la CT (computed tomography) in modo tale da poter riportare la deformazione di un segmento T12-L1 e poterne misurare il cambiamento nei vari step di compressione. Sono stati considerati carichi compresi tra 50 e 750 N. Nel corpo vertebrale della prima vertebra (T12) è stata introdotta una lesione litica con coinvolgimento corticale (coinvolgimento del 33% del volume totale), e successivamente si sono ripetuti esperimenti con CT. Attraverso i modelli a elementi finiti, stabiliti dalle considerazioni con CT, gli autori hanno investigato gli effetti causati dalla lesione. La lesione litica ha comportato una grave perdita della competenza strutturale della vertebra, con un conseguente aumento significativo, non lineare, e asimmetrico delle deformazioni misurate sperimentalmente e delle sollecitazioni calcolate all'interno di entrambe le vertebre (T12 e L1). Infatti, alla corteccia le deformazioni a trazione erano significativamente aumentate, mentre le deformazioni a compressione diminuivano significativamente. Infine, è stato quindi possibile affermare che, tra la *dimensione*, la *localizzazione* della metastasi e il *coinvolgimento corticale*, solo quest'ultimo fattore risulta influenzare il rischio di fallimento vertebrale (Alkalay and Harrigan, 2016) **(Tabella 2)**.

1.6.4 Analisi radiografica

Taneichi et al., 1997 ha studiato l'associazione tra il collasso del corpo vertebrale e la dimensione o localizzazione della lesione metastatica attraverso analisi statistiche, in modo tale da determinare i fattori che determinano il rischio del collasso, predire la probabilità del collasso sotto varie tipologie di coinvolgimento metastatico vertebrale e definire un modello generale per di collasso. Taneichi ha considerato 100 vertebre toraciche e lombari con lesione osteolitica provenienti da 53 pazienti, la dimensione e la posizione della lesione rientrante nel tratto T1-L5 sono state valutate radiograficamente. In conclusione, si riscontra una discrepanza considerevole tra la posizione toracica e la posizione lombare della colonna vertebrale. Difatti i risultati suggeriscono che, nella regione toracica, T1-T10, il fattore determinante per il collasso è la lesione della giunzione costovertebrale, mentre, la dimensione del tumore, la compromissione del peduncolo sono fattori rilevanti per il collasso lombare (e toroco-lombare), T10-L5 (Taneichi et al., 1997) **(Tabella 2)**.

1.7 Ipotesi

Alla luce della complessità dell'oggetto di studio e le incongruenze ritrovate in campo clinico e in campo ingegneristico, questo lavoro di tesi sostiene che, il Spinal Instability Neoplastic Score (SINS) sia uno strumento utile per indirizzare i clinici verso la scelta di una possibile stabilizzazione chirurgica dei pazienti con metastasi spinali, ma *incompleto*. Il SINS infatti, è un protocollo clinico valido per i casi estremi, SINS “stabile” (1-6) e SINS “instabile” (13-18), ma per i casi con stabilità indeterminata lascia ancora spazio a molteplici dubbi. Dunque, nello specifico, abbiamo ipotizzato che il rischio di frattura vertebrale in corrispondenza di un SINS “indeterminato” (score tra 7 e 12), può essere quantificato sulla base di parametri biomeccanici i quali, una volta validati in modo sperimentale, possono essere stimati in modo non invasivo usando modelli biomeccanici computazionali in linea con l'imaging medicale (oggetto di studio per i futuri lavori). Saranno quindi necessarie molteplici valutazioni biomeccaniche affinché si possano trovare delle correlazioni tra le caratteristiche meccaniche della vertebra e il SINS stesso, in modo tale da essere in grado di definire chiare linee guida per i clinici.

1.8 Scopo

Il progetto si pone l'obiettivo di eseguire una caratterizzazione meccanica che mostri lo stato di sollecitazione della vertebra (o di due vertebre) con metastasi rispetto al suo (loro) controllo adiacente. Le caratterizzazioni seguono un *protocollo* specificato in laboratorio (riportato in appendice). Inoltre, lo studio è volto a confrontare i risultati ottenuti dalle caratterizzazioni meccaniche dei segmenti spinali considerati con gli score inerenti al protocollo clinico SINS definiti dal chirurgo. Attraverso i risultati dei test meccanici, vogliamo dunque, fondare le basi per la realizzazione di un approccio che possa essere utilizzato in parallelo o con il SINS per una classificazione migliore e completa dei pazienti effetti da metastasi spinali considerati “indeterminati”.

CAPITOLO II

Materiali e Metodi

È stato seguito un **protocollo**, riportato in appendice, definito durante le fasi preliminari del lavoro. Esso è volto a descrivere in modo chiaro e schematico i passaggi fino all'esecuzione dei test meccanici. In alcune fasi descritte di seguito verrà richiamata la consultazione del protocollo in maniera diretta.

2.1 Descrizione provini

Ventuno colonne vertebrali congelate di cadavere umano, sono state ottenute da Anatomy Gift Register (AGR, Hanover, MD) tramite una procedura approvata dal comitato etico (protocollo 17325 dell'8 Febbraio 2019). I donatori erano di sesso maschile (9) e femminile (12), di etnia caucasica (19) e afroamericana (2). L'età media dei donatori era di circa 63 anni (range: 51-85) mentre; il loro peso medio era circa di 65 kg (range: 32-140 kg) (**Tabella 1**).

Nel nostro studio ci siamo interessati a casi rappresentativi di SINS indeterminato, prendendo in esame nove tratti vertebrali da sei spine dorsali (4 di sesso maschile e 2 di sesso femminile). Prevalentemente i segmenti presentano metastasi litiche (5), vi sono però anche casistiche in cui i tratti sono caratterizzati da metastasi blastiche (3) o miste (1) (**Tabella 1**).

Le colonne vertebrali sono state conservate con doppio sacco sigillato, secondo norme di conservazione, a -30°C in freezer. Al momento della preparazione, quindi dei test meccanici i provini sono stati poi fatti scongelare in una bacinella riempita di acqua a temperatura ambiente.

2.2 Computed Tomography (CT scan)

I provini sono stati inizialmente scannerizzati mediante la Tomografia Computerizzata nella clinica privata di Villalba a Bologna.

La Tomografia Computerizzata (CT), o Tomografia Assiale Computerizzata (TAC), è una tecnica di Diagnostica per Immagini che fornisce immagini tomografiche (cioè, di fette o strati corporei) disegnando i vari organi e tessuti sulla base della loro densità, rilevata grazie all'attenuazione di un fascio di raggi X che attraversa il paziente da differenti punti di vista.

Le immagini CT sono di tipo digitale, il computer infatti, converte la densità dei tessuti attraversati dai raggi X in livelli di grigio e ricostruisce l'immagine tridimensionale attraverso un algoritmo di back-projection.

Tutti i provini in stato congelato sono stati scansionati in aria mediante il tomografo Toshiba Aquilion One (Tokyo, Japan) (**Fig.1**), presente nella clinica privata (**Fig.2**). Al fine di avere il miglior imaging per il tessuto osseo, utilizzabile anche per la costruzione di modelli agli elementi finiti, sono stati sempre utilizzati i seguenti parametri:

- Voltaggio 120 kVp;
- Corrente 200 mA;
- Ricostruzione slice da 1 mm;
- Filtro di convoluzione: FC10.



Fig. (1) *Toshiba Aquilion One.*

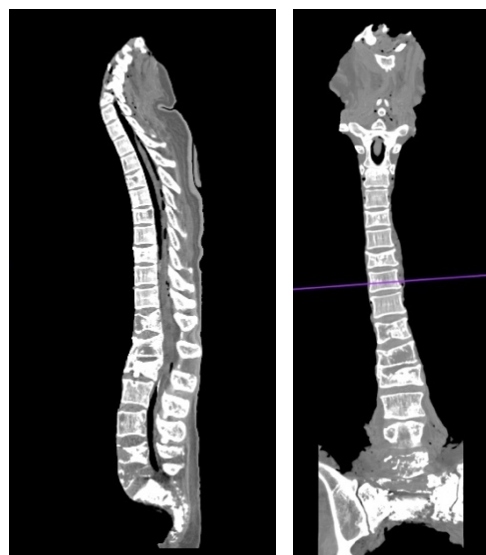


Fig. (2) *Esempio di CT scan: a fianco è riportata la Tomografia Computerizzata del provino #779, sia in vista sagittale (sinistra), che in vista frontale (destra).*

2.3 Determinazione del SINS

A seguito della scannerizzazione dei rachidi, il chirurgo Giovanni Barbanti-Bròdano dell'ospedale Rizzoli di Bologna specializzato nel settore ortopedico spinale ad indirizzo oncologico e degenerativo, ha determinato il SINS di ciascuna metastasi e il relativo trattamento chirurgico (**Tabella 2**), in questo modo è stato possibile completare la tabella relativa ai dati dei pazienti (**Tabella 1**) con il corrispondente SINS score. È risultato che un solo provino ha un SINS score esterno all'intervallo delle casistiche indeterminate (SINS: 6 - 12).

Tabella (1) In questa tabella sono riassunti per ogni donatore i seguenti dati: il codice di identificazione, il segmento vertebrale ricevuto, la causa del decesso, il sesso, l'età al momento della morte, il peso in kg e l'etnia (C = caucasica, B = afroamericana). Inoltre, le caselle blu sono relative ai provini considerati in questo studio ed in fondo sono riportate le medie aritmetiche di età e peso dei pazienti al momento del decesso.

Specimen ID	Segment	Cause of Death	Sex	Age	Weight (kg)	Ethnicity
753	vertebra (L1-L5)	Cancer - prostate	M	-	-	C
766	vertebra (T1-L3/4)	Cancer with mets	M	81	77	C
767	vertebra (C1-S5)	Respiratory failure - Lung cancer	M	63	79	C
768	vertebra (L1-S5)	Cancer - lung	F	85	38	C
769	vertebra (C1-S5)	Cancer - uterine	F	59	92	C
770	vertebra (C1-S5)	Cancer - lung	F	51	32	C
771	vertebra (T1-L5)	Cancer - bladder	M	75	49	C
772	vertebra (T1-S5)	Cancer - breast	F	82	54	C
773	vertebra (T12-L5)	Cancer - prostate	M	66	65	C
774	vertebra (T4-S5)	Cancer - breast	F	-	52	C
775	vertebra (T1-S5)	Cancer - breast	F	55	47	B
776	vertebra (T1-S5)	Cancer - prostate	M	83	64	C
777	vertebra (T7-S5)	Cancer - prostate	M	78	54	C
778	vertebra (L1-S5)	Adenocarcinoma	F	62	68	C
779	vertebra (C1-S5)	Cancer - breast	F	46	68	C
780	vertebra (C1-S5)	Cancer - breast	F	51	130	C
781	vertebra (C1-S5)	Cancer - lung	F	73	72	B
782	vertebra (C1-S5)	Adenocarcinoma	F	62	140	C
783	vertebra (T12-L4)	Cancer - lung	F	60	99	C
784	vertebra (T2 - T11)	Cancer - prostate	M	52	50	C
785	vertebra (C1-T12)	Cancer with mets	M	72	40	C
Mean				63	65	

Tabella 2 In questa tabella sono riassunti per ogni donatore i seguenti dati: codice identificativo, SINS score, posizione della metastasi, vertebra con caratteristiche rilevanti e trattamento chirurgico. Le caselle in blu sono relative ai provini considerati, le caselle in rosso alle casistiche con assenza di metastasi, in arancione alla situazione con SINS instabile e in giallo alle situazioni metastatiche irrilevanti.

Specimen ID	SINS	Metastasis level(s)	Lytic/ Blastic	Most relevant to study	Surgical treatment
753	4 (+3)	L3-L4	blastic	L4	
766	4 (+3)	T4	lytic		vertebroplasty
	3 (+3)	T6	lytic		vertebroplasty
	6(+3)	L2	lytic	L2	vertebroplasty
767	7 (+3)	T11-T12	mixed		no treat
	7 (+3)	L4-L5	mixed		no treat
768		no mets			
769	3 (+3)	T6	lytic		vertebroplasty
	3 (+3)	T7	lytic		vertebroplasty
	3 (+3)	T8	lytic		vertebroplasty
	3 (+3)	T10	lytic		vertebroplasty
	5 (+3)	T11	lytic	T11	fixation + vertebroplasty
770	11 (+3)	T1	lytic		fixation
	11 (+3)	T2	lytic	T2	fixation
	5 (+3)	T3	lytic		fixation
	5 (+3)	L2	lytic	L2	fixation
771	8(+3)	T12	mixed		vertebroplasty
	3(+3)	L2	mixed		vertebroplasty
	9(+3)	L3	lytic	L3	fixation
	3 (+3)	L4	mixed		vertebroplasty
772	3(+3)	T6	lytic	T6	fixation or vertebroplasty
	4(+3)	T11	mixed		vertebroplasty
	4(+3)	L2	lytic		vertebroplasty
	4(+3)	L4	lytic		vertebroplasty
773	5(+3)	L1-L2	blastic	L2	no treat
	5(+3)	L3-L5		L4	
774	11 (+3)	L1	lytic	L1	fixation
775	11(+3)	T4	lytic	T4	fixation
		T5	lytic		
	5(+3)	T8	lytic		
		T10	lytic		
	7(+3)	T11	lytic		
	10(+3)	L2	lytic	L2	
	9(+3)	L4	lytic	L4	fixation
776	9(+3)	T8		T8	vertebroplasty
	6(+3)	L4		L4	vertebroplasty
777		L2	blastic		
	8(+3)	L5	mixed	L5	vertebroplasty
778		no mets			
779	8(+3)	T4	lytic		vertebroplasty
	6(+3)	T8	mixed		vertebroplasty
	8(+3)	T11	mixed		vertebroplasty
	12(+3)	L4	lytic	L4	fixation
	13(+3)	L5	lytic	L5	fixation
780	7(+3)	T6			
	7(+3)	T12			no treat
	7(+3)	L5	mixed		
781	6(+3)	T7	mixed	T6	vertebroplasty
	4(+3)	T12	mixed		vertebroplasty
	4(+3)	L2	mixed		vertebroplasty
782	3(+3)	T5	lytic	T5	radio
783	8(+3)	L2	lytic		vertebroplasty
784	5(+3)	T8	mixed	T8	vertebroplasty
	5(+3)	T10	mixed		vertebroplasty
785	4(+3)	T3	lytic		
	4(+3)	T5	lytic	T5	
	4(+3)	T6	lytic	T6	

2.4 Preparazione provini

I provini sono stati preparati per i test meccanici rimuovendo completamente i tessuti molli e i legamenti attorno al corpo vertebrale prestando attenzione a non ledere i dischi intervertebrali e il guscio corticale spesso compromesso dalla lesione metastatica. Sono stati eliminati anche i legamenti anteriori con molta cura. Una più profonda pulizia è stata eseguita nei tratti metastatici essendo il fulcro della nostra ricerca (**Fig.3**).

La fase di preparazione dei provini segue le indicazioni riportate dal *protocollo* in appendice per le tre diverse Casistiche (Caso 1, Caso 2 o Caso 3). Le vertebre alle estremità sono state tagliate a metà, seguendo la geometria del corpo vertebrale. La preparazione è terminata una volta eseguito il taglio delle vertebre esterne e delle costole ed inserite le viti da legno nelle estremità del segmento vertebrale per aumentare la presa (richiamo nei paragrafi successivi).

Gli strumenti (**Fig.4**) utilizzati per la pulizia dei provini sono:

- Rongeur
- Supporti per aghi;
- Pinza;
- Cucchiaino per chirurgia;
- Bisturi;
- Guanto in acciaio inossidabile resistente al taglio;
- Guanti sintetici;
- Teli chirurgici;
- Asciugamani di carta;
- Camice chirurgico;
- Carta vetrata.

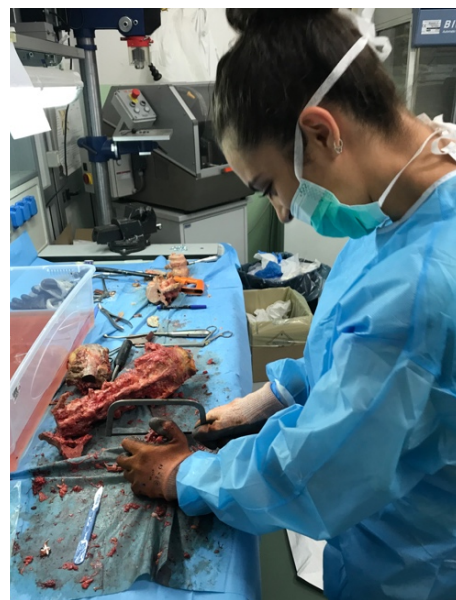


Fig. (3) Operatore sporco in fase di preparazione del provino. L'operatore indossa il camice chirurgico, la mascherina e i guanti sintetici sotto i guanti anti-taglio, in linea con le condizioni di sicurezza.

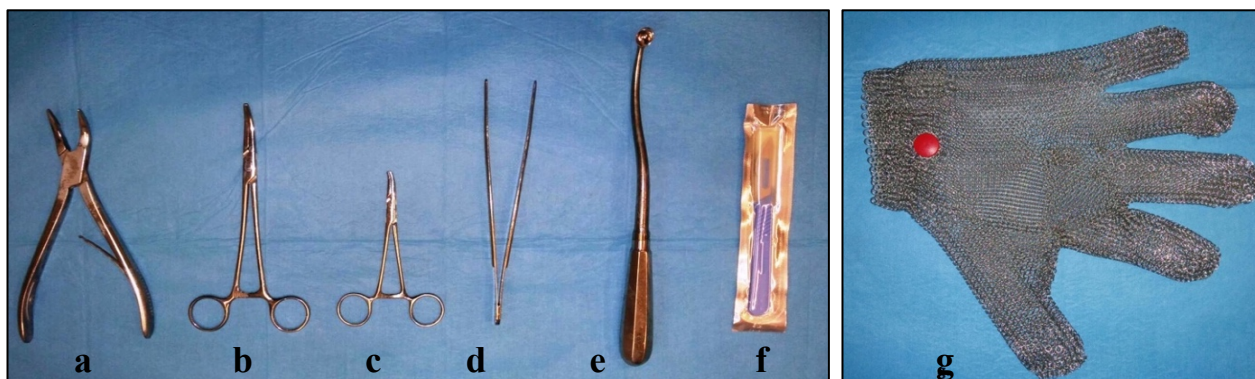


Fig. (4) Strumenti chirurgici: **a.** rongeur, **b-c** porta aghi, **d.** pinza, **e.** cucchiaino per chirurgia, **f.** bisturi, **g.** guanti anti-taglio. Gli strumenti sono posizionati su un telo chirurgico.

2.5 Allineamento

L'allineamento è la fase antecedente ai test meccanici, più studi hanno conseguito analisi per ottimizzare questa fase (Danesi et al., 2014). Nel nostro lavoro è stato seguito un allineamento che prevede diversi step. È bene sottolineare che sono sempre state garantite le condizioni di sicurezza, ciò significa che per tutto il seguente procedimento l'operatore ha indossato i guanti sintetici e il camice chirurgico, inoltre, si è servito di teli chirurgici per maneggiare il provino e ha utilizzato protezioni in plastica per limitare la contaminazione degli strumenti.

I materiali coinvolti in questo step sono:

- Pot: 62 mm x 62 mm (**Fig.6**);
- Cemento in polvere, PMMA;
- Monomero;
- Calibro (**Fig.5**);
- Set di squadre (**Fig.5**);
- Righelli orizzontali (**Fig.5**);
- Asciugamani di carta;
- Guanti di plastica;
- Carta vetrata (50-100 grani);
- Agente distaccante a base di silicio;
- Posizionatore a 6 GdL (**Fig.5**).



Fig. (5) Strumenti per l'allineamento: a sx il posizionatore a 6GdL, al centro il calibro, a dx la squadra e i righelli orizzontali.

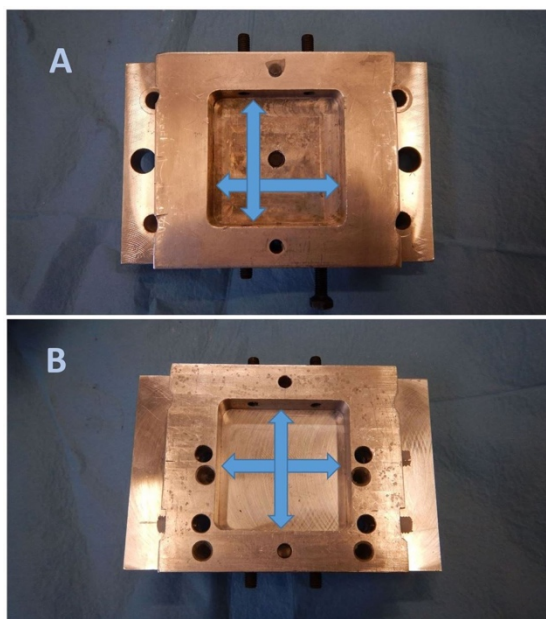


Fig. (6) Strumenti per l'allineamento: i due diversi pot (superiore ed inferiore) presentano un buco quadrato, essi hanno la stessa dimensione (in figura sono riportati pot con dimensione 62 mm x 62 mm). Il pot A possiede un foro centrale che facilita la rimozione del cemento dal pot stesso.

1. Primo step:

I processi posteriori del segmento vertebrale sono stati afferrati dal posizionatore. Solitamente la porzione centrale del tratto vertebrale è tenuta stretta mediante carta vetrata.

Sotto la guida del *protocollo* (appendice), l'allineamento è stato eseguito dall'operatore rispettando il Caso in considerazione (Caso 1, Caso 2, Caso 3).

2. Secondo step:

Si procede dunque misurando attraverso la CT i punti necessari per l'allineamento: il punto a destra e a sinistra del corpo vertebrale, il punto craniale e caudale, il punto anteriore e posteriore. Quindi, si allinea prima il piano frontale, poi il piano sagittale, infine il coronale utilizzando appositamente le squadre e il posizionatore (**Fig.5**) (**Fig.7**).

È necessario conseguire diverse iterazioni (solitamente 3 o 4) tra diversi operatori, ma anche dallo stesso, in modo tale da garantire un corretto allineamento.

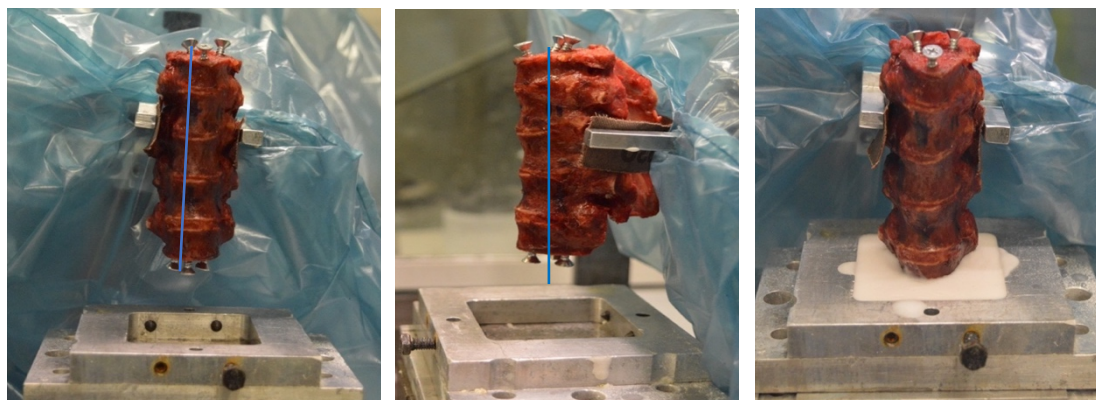


Fig. (7) A dx e in centro: allineamento del piano frontale e laterale; a sx: cementazione della parte caudale del segmento. La linea blu indica l'allineamento dei vari punti.

3. Terzo step:

La vertebra in posizione inferiore deve essere posizionata al centro del pot A (**Fig.6**), in particolare, la superficie più bassa della vertebra deve essere posizionata a 3 mm dal fondo del pot. Al fine di facilitare la colata del cemento nel pot si solleva il provino con il posizionatore. Segue la preparazione del cemento miscelando 40 mg di polvere di polimetilmetacrilato (PMMA) e 20 mg di monomero (**Fig.8**). Per facilitare la rimozione del cemento dal pot, viene spruzzato lo spray distaccante al silicone prima di far colare il cemento. Una volta posizionato il cemento, il provino viene abbassato alla stessa altezza stabilita precedentemente (a 3 mm dal fondo del pot) (**Fig.7**). Si attendono 20 minuti affinché il cemento solidifichi.

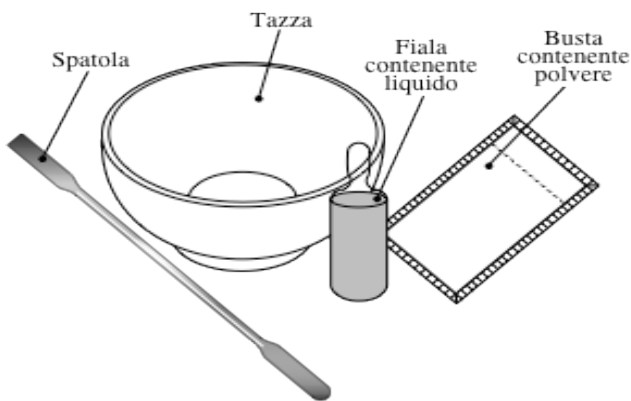


Fig. (8) *Strumentazione per la preparazione del cemento.*

4. Quarto step:

Una volta avvenuta la cementazione a livello della vertebra inferiore (caudale), viene rimosso il provino dal pot A e posizionato il pot B (**Fig.6**), già preparato (come nel terzo step), nella parte craniale del segmento. Il tratto vertebrale viene ruotato di 180°, posizionando la parte craniale in basso e la parte caudale verso l'alto, quindi si opera come fatto precedentemente (terzo step).

In questo modo, sono state cementate le due estremità del segmento in considerazione, il provino è pronto per la fase successiva.

2.6 Preparazione alle prove meccaniche

2.6.1 Digital Imaging Correlation (DIC)

Per adempiere allo scopo che questo lavoro si propone, è stata utilizzata la Digital Imaging Correlation (DIC), ovvero una tecnica che permette di misurare lo *spostamento* e, mediante derivazione, la *deformazione* in diversi campi di applicazione, come quello biomeccanico (Palanca et al 2015;, n.d.). La misura dello spostamento, quindi della deformazione, è un obiettivo molto importante negli esperimenti biomeccanici, in quanto permette la *caratterizzazione* dei materiali, come dei tessuti biologici.

A causa delle caratteristiche disomogenee e anisotrope dei provini biologici, come i rachidi considerati, è estremamente importante ottenere misure a tutto campo. In particolare, le misure a tutto campo risultano essere fondamentali in corrispondenza di danneggiamenti locali, proprio come le lesioni metastatiche, affinché se ne possa identificare la zona di inizializzazione e di propagazione.

La DIC è una tecnica di misura ottica digitale a tutto campo che si basa sull'acquisizione di un set di immagini della superficie del provino in condizioni di riposo (assenza di carico) e in condizioni di carico. Nello specifico, le immagini sono divise in piccole sub-immagini, chiamate “facet” e un algoritmo definisce un match delle facet tra quelle di riferimento (in condizione a riposo) e quelle deformate (in condizione di carico). Il campo di spostamento è quindi calcolato e successivamente, mediante derivazione del campo di spostamento stesso, si ottiene il campo di deformazione. Per inizializzare la correlazione spaziale della DIC, è necessaria una calibrazione affinché si aumenti l'accuratezza dell'algoritmo stesso.

L'algoritmo DIC può funzionare sia con immagini bidimensionali (utilizzando una sola camera), che con immagini tridimensionali (utilizzando due o più camere). In questa analisi vengono considerate due telecamere al fine di avere una visione stereoscopica. Le telecamere hanno garantito un'acquisizione frontale (**Fig.9a**) (**Fig.9b**), esse vengono infatti posizionate di fronte.

In questo studio la calibrazione prevede:

- AL-BMB-04;
- 8 foto con diverse inclinazioni al calibratore seguente.

Relativamente alla correlazione spaziale, è possibile affermare che, essa è necessaria per ottenere risultati ottimali per la specifica applicazione. Infatti, solitamente i seguenti parametri vengono adattati in relazione all'analisi da eseguire (**Fig.10**):

- *Dimensione della facet*;
- *Grid spacing*, ovvero lo spazio tra facet successive;

- *Finestra di deformazione*, essa risulta tipicamente più larga rispetto alla singola facet e viene utilizzata per derivare il campo di deformazione rispetto ad un'area piuttosto larga, in modo da attenuare il rumore. La finestra di deformazione è ottimizzata per non sprecare risoluzione e aumentare i tempi di calcolo;
- *Quota di validità*, non altro che il numero minimo di punti di misura che devono essere presenti nella finestra di calcolo affinché sia possibile misurare lo spostamento (quindi la deformazione);
- *Filtraggio*, esso viene considerato per ridurre il rumore.

I valori assegnati a ciascun parametro vanno a determinare l'accuratezza, la precisione e la risoluzione spaziale dell'immagine finale. Non esistono valori universali per questi parametri, essi sono correlati alla particolare condizione biomeccanica in esame (Palanca et al 2015;, n.d.).

In questo lavoro, la correlazione considera:

- *Dimensione della facet* di 29-35;
- *Grid spacing* pari a 15-20;
- *Quota di validità* dell'80%;
- *Filtering*: kernel size 11x11;
- Inoltre, le due telecamere sono state disposte in modo verticale e orientate a 25° fra loro (quindi 12.5° per ciascuna) dove il provino è posto al centro di esse (**Fig.11**).

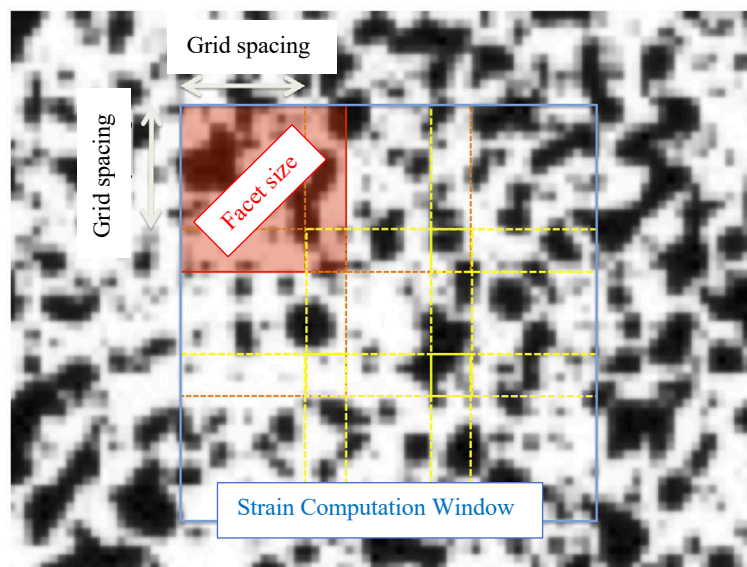


Fig. (10) Visualizzazione, a seguito dell'acquisizione mediante DIC, di una porzione superficiale di un provino definito da speckle pattern randomico (chiaro-scuro).

È possibile distinguere i seguenti parametri:

- Dimensione della facet;
- Grid spacing;
- Finestra di deformazione.

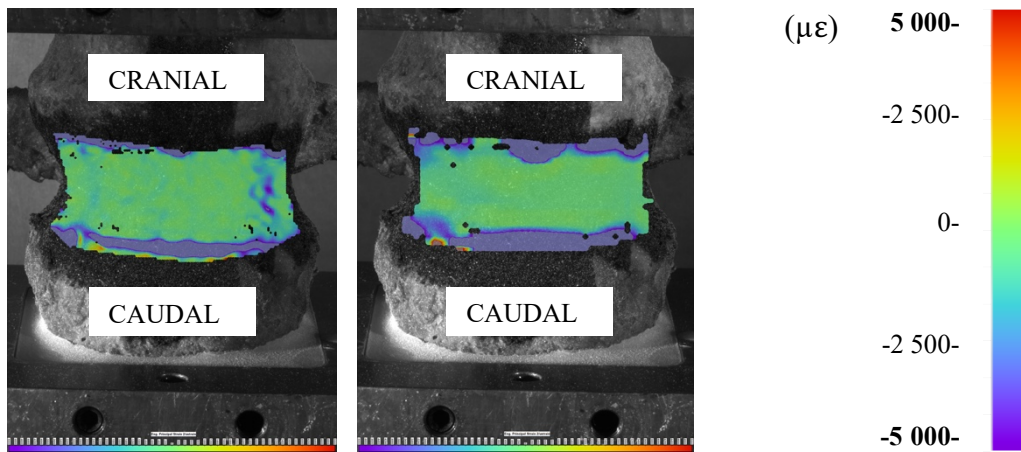


Fig. (9a) *Acquisizione immagini mediante DIC: le deformazioni variano in base al carico applicato. In queste due situazioni si evidenziano le Deformazioni Principali Minime. Nella prima immagine a sinistra il provino è sottoposto ad un carico minore, a fianco, verso destra, il provino è sottoposto ad un carico maggiore. A destra invece, è riportata la scala di deformazioni in $\mu\epsilon$.*

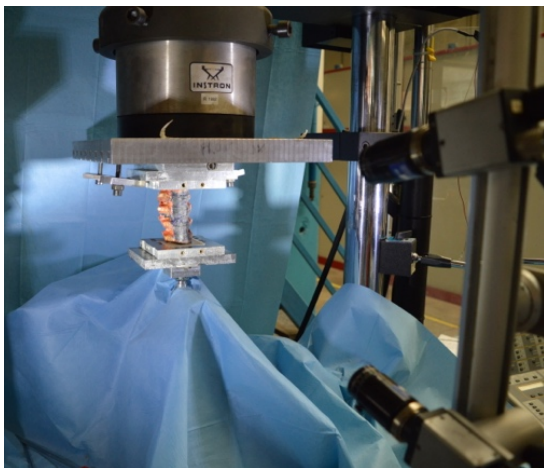


Fig. (9b) *Le due telecamere utilizzate per ottenere una vista frontale.*

2.6.2 Speckle pattern

Purché la correlazione spaziale mediata dalla DIC sia valida, è necessario definire lo speckle pattern sulla superficie del corpo vertebrale del provino. Per creare lo speckle pattern, è stato inizialmente preparato un background blu quindi, utilizzando l'aerografo, è stata spruzzata della vernice bianca diluita in acqua, per dipingere punti bianchi e uniformi sullo sfondo scuro (Lionello et al. 2014, n.d.) (Lionello et al. 2014, n.d.) (Palanca et al. 2018, n.d.).

Per la preparazione dello sfondo scuro sono stati considerati i seguenti materiali:

- Soluzione satura di blu di metilene (**Fig.11**);
- Pennello morbido (**Fig.11**);
- Guanti sintetici;
- Teli chirurgici.

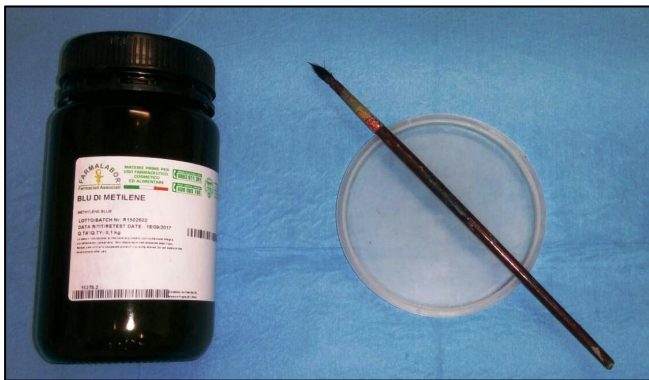


Fig. (11) *Materiali per background blu: blu di metile diluito e pennello morbido.*

Con il pennello è stata dipinta la zona superficiale di interesse, quindi, si è aspettato che il provino si asciugasse completamente prima di procedere. In base al Caso in studio (Caso 1, Caso 2, Caso 3, protocollo in appendice) la zona dipinta sarà più o meno espansa. Una volta asciutto il background scuro, mediante l'aerografo, sono stati creati dei punti bianchi di vernice sulla superficie in esame del provino (**Fig.12**).

Per la creazione dei punti bianchi sono stati considerati i seguenti materiali:

- Vernice diluita in acqua al 40% (Q250201 Bianco Opaco, Chrèon, Italy, per bianco e nero) (**Fig.13**);
- Cilindro per acqua graduato (**Fig.13**);
- Aerografo a Pressione 1bar (**Fig.14**);
- Portata vernice 3 giri dalla posizione tutto chiuso della vite dell'aerografo.



Fig. (13) *Materiali per speckle pattern: cilindro graduato, vernice diluita in acqua al 40%*



Fig. (14) *Materiali per speckle pattern: aerografo.*

Per avere una superficie con uno speckle pattern uniforme, l'aerografo dovrebbe essere posizionato a 30 cm rispetto al provino e la velocità con cui lo strumento si muove per spruzzare la vernice dovrebbe essere appropriata (non troppo lenta, non troppo veloce, acquisita tramite training dell'operatore).

Questa tecnica si rivela valida sia per le piccole che per le grandi deformazioni, in quanto la vernice riesce ad adattarsi sempre con esse. Solitamente si preferiscono le vernici ad acqua perché minimizzano l'alterazione biologica del provino stesso.

Per un uso ottimale della DIC, quindi per assicurare accuratezza e precisione delle deformazioni e degli spostamenti, lo speckle pattern dovrebbe rispettare alcuni requisiti:

- Una distribuzione randomica dei punti bianchi, in modo da creare aree univocamente identificabili;
- Un alto contrasto, per permettere la correlazione dell'immagine tramite algoritmo in modo efficiente, per questo si considerano punti bianchi su uno sfondo scuro;
- Un rapporto bianco-blu pari a 50:50, in modo da evitare regioni che non posso essere propriamente riconosciute;
- Una minima rugosità, così da omettere alterazioni della geometria superficiale;
- La dimensione del singolo punto bianco deve essere compresa tra i 3 e i 5 pixels (Palanca et al., 2016).



Fig. (12) Risultato finale: provino cementato in entrambe le sue estremità (craniale e caudale) con speckle pattern nella superficie di interesse metastatica.

2.7 Test Meccanici

Una volta impostata la Digital Imaging Correlation (DIC) e realizzato lo speckle pattern sul provino in esame, lo step successivo è stato preparare la macchina per le prove meccaniche, quindi posizionare correttamente il provino sulla macchina e definire i carichi per i test.

La macchina utilizzata è la Instron con telaio 8032, elettronica 8800 e cella di carico pari a 100kN (**Fig.15**). Per ottenere risultati ottimali in questo caso di studio, la macchina è stata settata con i seguenti parametri:

- Cella di carico a 10kN;
- 20 cicli di pre-condizionamento;
- Velocità imposta di 0.5 BW/s.

Il provino è stato posizionato nella macchina con l'utilizzo di viti e piani paralleli da officina (**Fig.16**). Il segmento vertebrale è stato posizionato rispetto al centro del corpo vertebrale, il quale può essere misurato mediante una media pesata del corpo vertebrale stesso. È risultato utile determinare un offset anteriore del 10% della distanza tra il punto anteriore e quello posteriore del corpo vertebrale (nel Caso 2, viene considerato il disco) per poter generare una presso-flessione (Dall'ara et al. 2010, n.d.). Inoltre, le slitte della macchina relative agli assi "x" e "y" sono state bloccate, così da evitare movimenti eccessivi del provino sul piano d'appoggio.

È fondamentale che il disco (i dischi) funzioni (funzionino) bene in modo da diffondere il carico su tutto il corpo vertebrale.

Ogni provino è stato sottoposto ad una rampa di carichi a 3 step, ovvero, inizialmente il provino è stato sottoposto ad un carico di 0.5 BW, poi ad 1 BW, infine ad 1.5 BW. In questo modo è stato possibile definire test comparabili e verificare la deformazione della zona vertebrale metastatica.

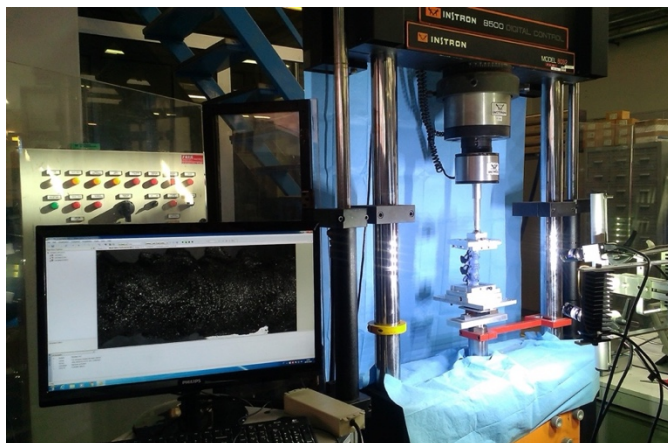


Fig. (15) Macchina utilizzata per le prove meccaniche: Instron con telaio 8032, elettronica 8800 e cella di carico di 100kN.

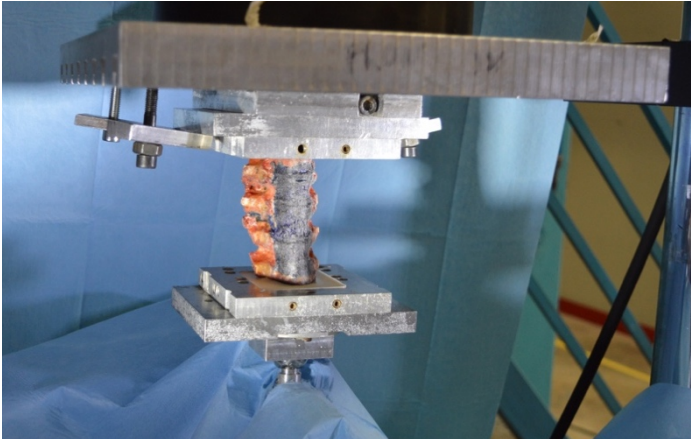


Fig. (16) *Provino posizionato nella macchina di prova utilizzando viti e piani paralleli da officina.*

2.8 Metrica

Attraverso questo studio sperimentale è stato possibile, per ciascun provino, misurare i seguenti parametri:

- *SINS score* per ciascuna vertebra metastatica e il corrispondente *trattamento clinico*;
- *Deformazione principale massima e minima*, sia sul corpo vertebrale metastatico, sia sul corpo vertebrale di controllo.

Mediante la DIC inoltre, è stato possibile creare una regione di interesse sulla superficie del corpo vertebrale anteriore della vertebra di controllo (nel caso sia presente) o della vertebra con metastasi.

Quindi, sono stati ricavati i seguenti dati quantitativi:

- *Media* delle deformazioni della superficie considerata;
- *Minima* deformazione della superficie considerata;
- *Massima* deformazione della superficie considerata.

relativi alle deformazioni principali (massime, ε_1 ($\mu\varepsilon$), e minime, ε_2 ($\mu\varepsilon$)):

I dati ottenuti dalle caratterizzazioni meccaniche hanno quindi permesso un confronto con gli score inerenti al protocollo clinico SINS.

CAPITOLO III

Risultati

3.1 Analisi Qualitativa

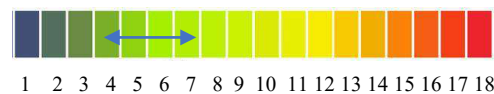
I test effettuati sui 9 provini in vitro, hanno considerato differenti step di carico che potessero essere confrontabili fra loro, come prevede il *protocollo* in appendice, e che assicurino sempre l'integrità del provino.

Grazie all'utilizzo della DIC è stato possibile ottenere *mappe di deformazioni a tutto campo*, relative alla superficie anteriore del corpo vertebrale. Le seguenti mappe di deformazioni a tutto campo **(Fig.1) (Fig.2) (Fig.3) (Fig.4) (Fig.5) (Fig.6) (Fig.7) (Fig.8) (Fig.9)** mostrano, in modo qualitativo, come la distribuzione delle deformazioni sia connessa alla presenza o meno di lesioni metastatiche. Infatti, considerando anche le immagini CT, che permettono una migliore identificazione della posizione della metastasi nel corpo vertebrale, è stato possibile osservare che:

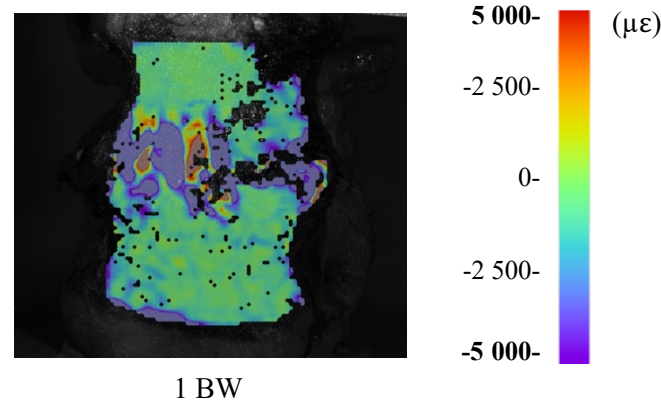
- Le vertebre sane, dunque senza presenza di metastasi, manifestano una mappa di deformazioni omogenea, con picchi di deformazioni di bassa entità, e gradienti molto contenuti. Nelle vertebre sane il valor medio delle deformazioni, nelle tre condizioni di carico, varia complessivamente più di $\pm 30\%$;
- Le vertebre con presenza di metastasi, invece, mostrano dei picchi di deformazione in prossimità delle lesioni metastatiche. Dunque, è possibile aggiungere che le immagini CT si rivelano fondamentali per definire la correlazione che lega la presenza della metastasi e il sito di maggiori deformazioni. Nelle vertebre metastatiche il valor medio delle deformazioni, nelle tre condizioni di carico, varia complessivamente meno di $\pm 30\%$.

Numero Provino: #753
 Segmento considerato: L2-L5

SINS di L4: [4-7]



Immagini DIC: **Deformazioni principali minime.**



Immagini CT: Segmento soggetto da **lesione osteoblastica.**

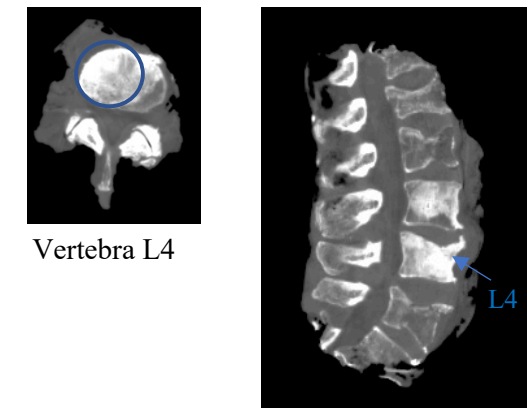


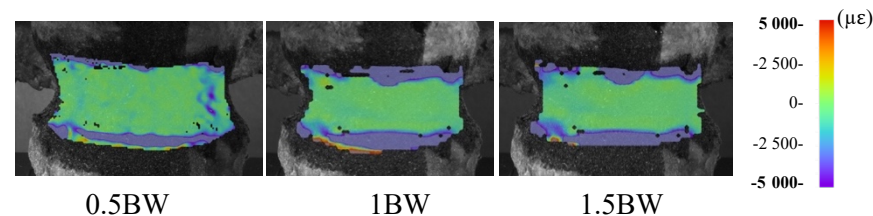
Fig. (1) Provino #753, tratto L2-L5: a sinistra il SINS relativo alla vertebra metastatica L4; al centro la mappa di deformazioni del segmento vertebrale per condizione di carico di 1BW e relativa scala di riferimento; a destra le immagini CT relative alla vertebra metastatica L4 in vista trasversale e dell'intero segmento in vista laterale.

Numero Provino: #773
 Segmento considerato: L1-L3

SINS di L2: [5-8]



Immagini DIC: **Deformazioni principali minime.**



Immagini CT: Segmento soggetto completamente da **lesione osteoblastica.**

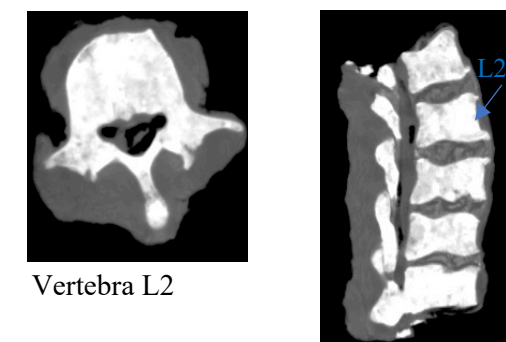
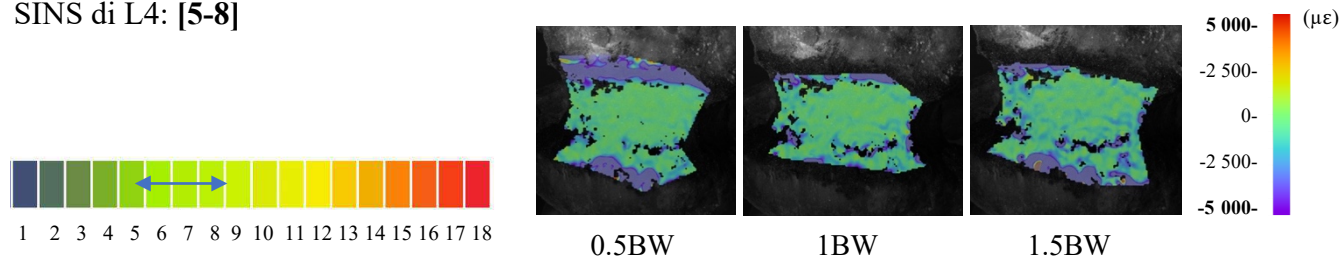


Fig. (2) Provino #773, tratto L1-L3: a sinistra il SINS relativo alla vertebra metastatica L2; al centro le mappe di deformazioni del segmento vertebrale per le tre condizioni di carico: 0.5 BW, 1 BW, 1.5BW e relativa scala di riferimento; a destra le immagini CT relative alla vertebra metastatica L2 in vista trasversale e dell'intero segmento in vista laterale.

Numero Provino: #773
 Segmento considerato: L3-L5

SINS di L4: [5-8]



Immagini CT: Segmento soggetto completamente da lesione osteoblastica in L4.

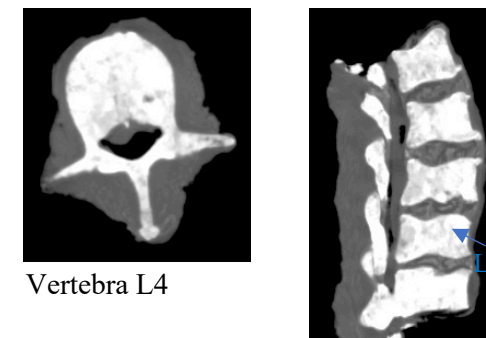
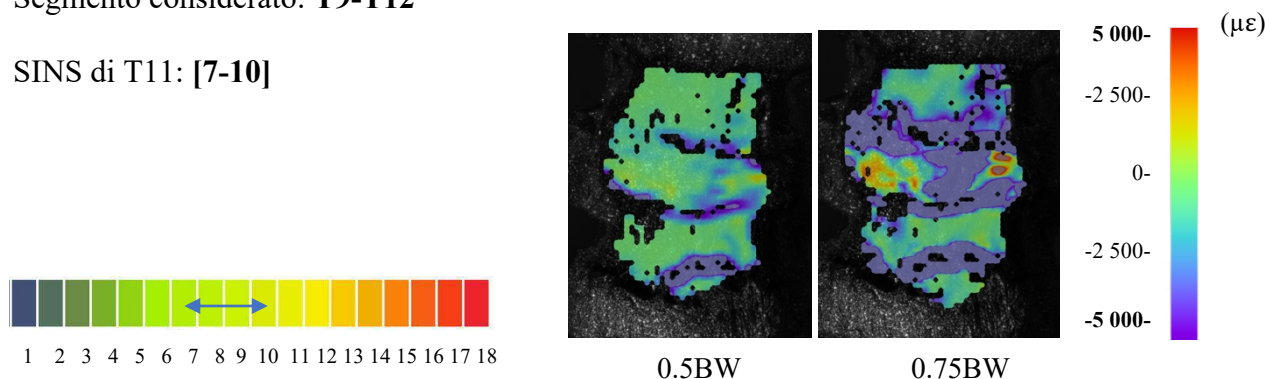


Fig. (3) Provino #773, tratto L3-L5: a sinistra il SINS relativo alla vertebra metastatica L4; al centro le mappe di deformazioni del segmento vertebrale per le tre condizioni di carico: 0.5 BW, 1 BW, 1.5 BW e relativa scala di riferimento; a destra le immagini CT relative alla vertebra metastatica L4 in vista trasversale e dell'intero segmento in vista laterale.

Numero Provino: #775
 Segmento considerato: T9-T12

SINS di T11: [7-10]



Immagini CT: Segmento soggetto da lesione osteolitica in T11.



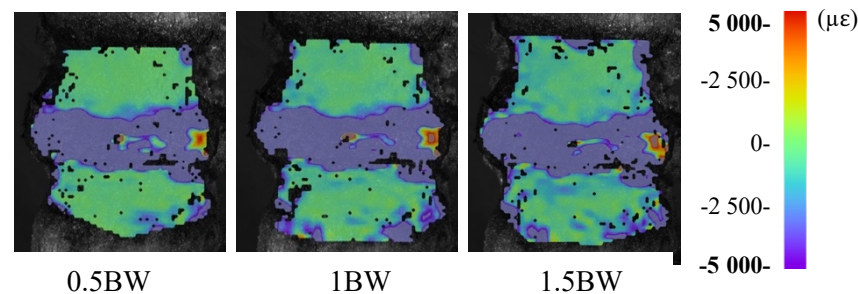
Fig. (4) Provino #775, tratto T9-T12: a sinistra il SINS relativo alla vertebra metastatica T11; al centro le mappe di deformazioni del segmento vertebrale per due condizioni di carico: 0.5BW, 1BW e relativa scala di riferimento; a destra le immagini CT relative alla vertebra metastatica T11 in vista trasversale e dell'intero segmento in vista laterale.

Numero Provino: #775
 Segmento considerato: T12-L3

SINS di L2: [10-13]



Immagini DIC: Deformazioni principali *minime*.



Immagini CT: Segmento soggetto da lesione *osteolitica* in L2.

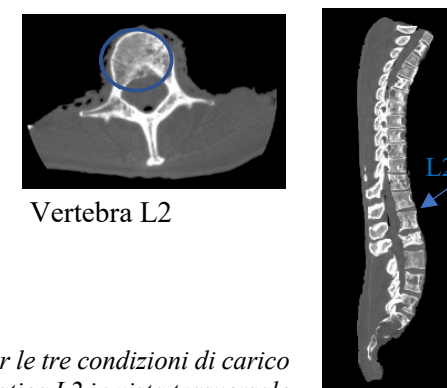


Fig. (5) Provino #775, tratto T12-L3: a sinistra il SINS relativo alla vertebra metastatica L2; al centro la mappa di deformazioni per le tre condizioni di carico del segmento vertebrale: 0.5 BW, 1 BW, 1.5 BW e relativa scala di riferimento; a destra le immagini CT relative alla vertebra metastatica L2 in vista trasversale e dell'intero segmento in vista laterale.

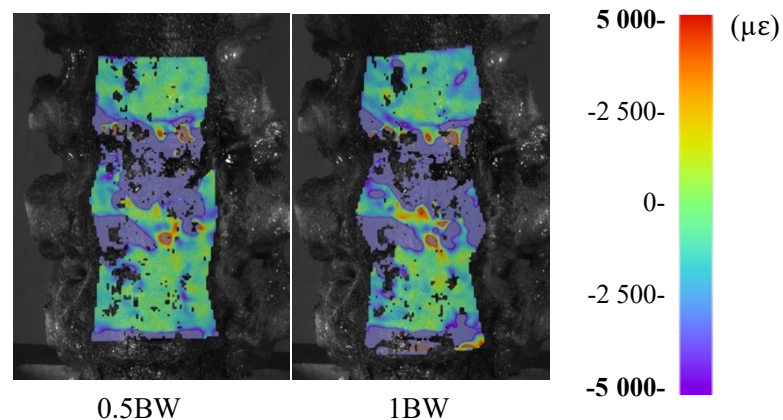
Numero Provino: #779
 Segmento considerato: T2-T6

SINS di T4: [8-11]

SINS di T5: [8-11]



Immagini DIC: Deformazioni principali *minime*.



Immagini CT: Segmento soggetto da lesione *osteolitica* in T4 e con capsula in T5.

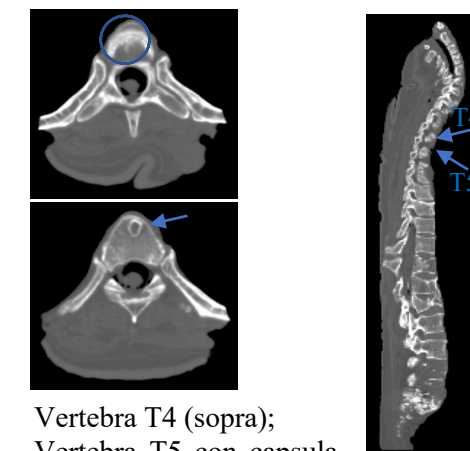
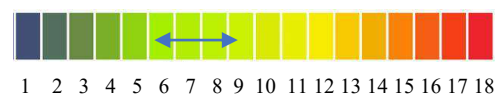


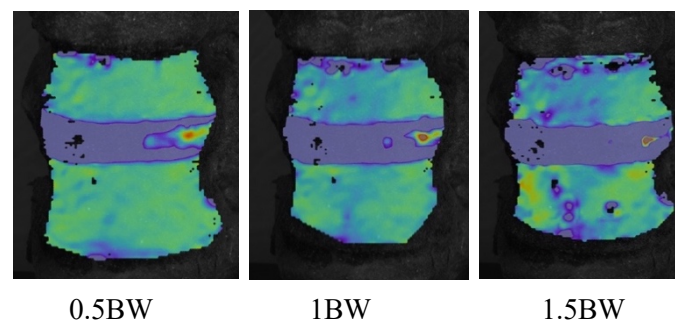
Fig. (6) Provino #779, tratto T2-T6: a sinistra il SINS relativo alle vertebre metastatiche T4, T5 (con capsula); al centro la mappa di deformazioni del segmento vertebrale per due condizioni di carico: 0.5 BW, 1 BW e relativa scala di riferimento; a destra le immagini CT relative alle vertebre metastatiche T4, T5 in vista trasversale e dell'intero segmento in vista laterale.

Numero Provino: #779
Segmento considerato: T7-T10

SINS di T8: [6-9]



Immagini DIC: Deformazioni principali *minime*.



Immagini CT: Segmento soggetto da lesione *mista* in T8.

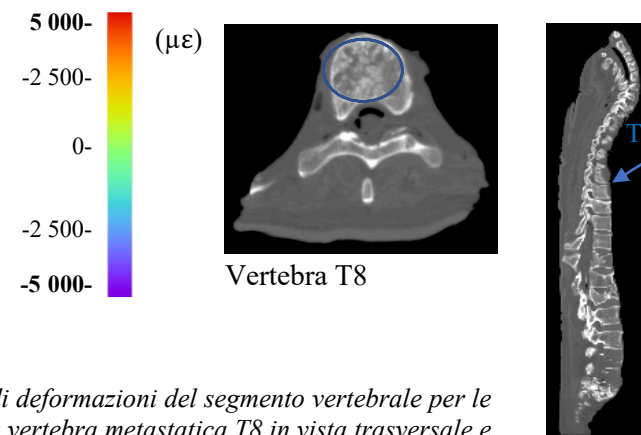


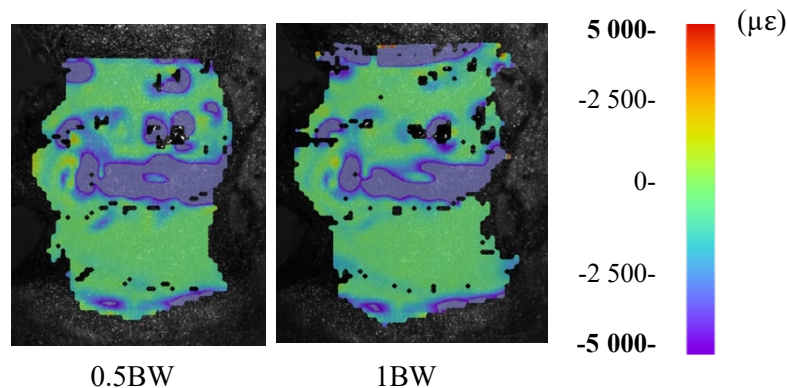
Fig. (7) Provino #779, tratto T7-T10: a sinistra il SINS relativo alla vertebra metastatica T8; al centro la mappa di deformazioni del segmento vertebrale per le tre condizioni di carico: 0.5 BW, 1 BW, 1.5 BW e relativa scala di riferimento; a destra le immagini CT relative alla vertebra metastatica T8 in vista trasversale e dell'intero segmento in vista laterale.

Numero Provino: #784
Segmento considerato: T6-T9

SINS di T8: [5-8]



Immagini DIC: Deformazioni principali *minime*.



Immagini CT: Segmento soggetto da lesione *mista* in T8.

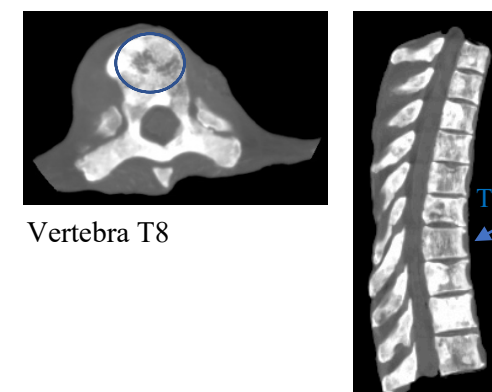


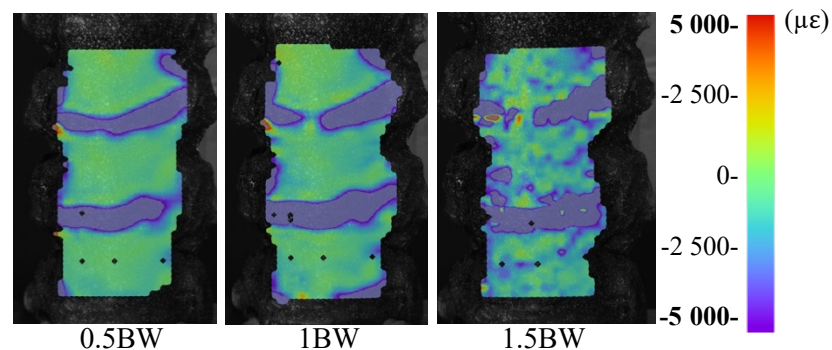
Fig. (8) Provino #784, tratto T6-T9: a destra il SINS relativo alla vertebra metastatica T8; al centro la mappa di deformazioni del segmento vertebrale per le tre condizioni di carico: 0.5 BW, 1 BW, 1.5 BW e relativa scala di riferimento; a sinistra le immagini CT relative alla vertebra metastatica T8 in vista trasversale e dell'intero segmento in vista laterale.

Numero Provino: #785
 Segmento considerato: T4-T8

SINS di T5: [4-7]
 SINS di T6: [4-7]



Immagini DIC: Deformazioni principali *minime*.



Immagini CT: Segmento soggetto da lesione *osteolitica* in T5 e T6.

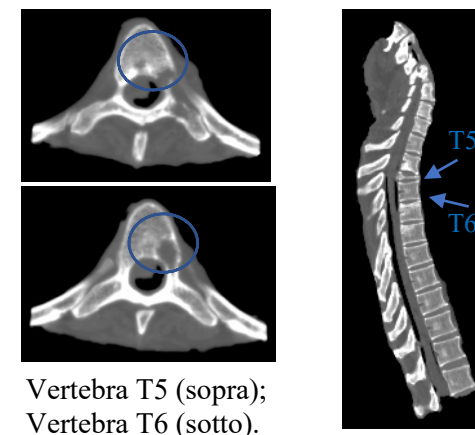


Fig. (9) Provino #785, tratto T4-T8: a destra il SINS relativo alle vertebre metastatiche T5, T6; al centro la mappa di deformazioni del segmento vertebrale per le tre condizioni di carico: 0.5 BW, 1 BW, 1.5 BW e relativa scala di riferimento; a sinistra le immagini CT relative alle vertebre metastatiche T5, T6 in vista trasversale e dell'intero segmento in vista laterale.

3.2 Analisi quantitativa

Nelle seguenti tabelle sono riportati i valori delle deformazioni principali massima e minima per ciascuna vertebra di ogni segmento testato. In particolare, viene riportato il valore medio calcolato per ciascuna regione d'interesse (\pm DS), il valore massimo e il valore minimo in quella regione di interesse. Questo lavoro ha garantito l'integrità delle vertebre, infatti, alcuni provini, affinché si evitasse il loro danneggiamento, non sono stati sottoposti a tutte e tre le condizioni di carico. Per questo motivo, in alcune delle seguenti tabelle i dati corrispondenti a determinate condizioni di carico mancano **(Tabella 1) (Tabella 2) (Tabella 3) (Tabella 4) (Tabella 5) (Tabella 6) (Tabella 7) (Tabella 8) (Tabella 9)**.

Relativamente alle Deformazioni Principali Massime, le *medie* dei valori medi di deformazione (omettendo la deviazione standard) dei nove provini sono pari a 765 $\mu\epsilon$, 2168 $\mu\epsilon$ e 1823 $\mu\epsilon$; i valori *massimi* locali risultano di 6300 $\mu\epsilon$, 20000 $\mu\epsilon$ e 7100 $\mu\epsilon$; mentre, i valori *minimi* locali sono -890 $\mu\epsilon$, -1020 $\mu\epsilon$ e -50 $\mu\epsilon$, calcolati rispettivamente nelle condizione di carico di 0.5BW, 1BW e 1.5BW.

Invece, per le Deformazioni Principali Minime, le *medie* dei valori medi di deformazioni sono di -547 $\mu\epsilon$, -5024 $\mu\epsilon$ e -1265 $\mu\epsilon$; i valori *massimi* locali di deformazione risultano di 8990 $\mu\epsilon$, 0 $\mu\epsilon$ e 200 $\mu\epsilon$; infine, i valori *minimi* locali di deformazione sono di -10000 $\mu\epsilon$, -40000 $\mu\epsilon$ e -4000 $\mu\epsilon$, calcolati sempre rispettivamente nelle condizioni di carico di 0.5BW, 1BW e 1.5BW.

È immediato osservare che le deformazioni medie misurate sono, in valore assoluto, più elevate in corrispondenza delle vertebre con lesione metastatica.

Al fine di averne una quantificazione, è riportato inoltre, il rapporto del valor medio, sia per la deformazione principale massima (ϵ_1) che minima (ϵ_2), misurato sulla vertebra con metastasi rispetto alla sua vertebra di controllo (vertebra dello stesso segmento senza metastasi, se presente) **(Tabella 10)**.

#753

L2-L5

1 BW (step 79)

	L3	L4
Principal strain 1		
Mean over surface \pm DS	150 \pm 120	560 \pm 150
Min over surface	-348	-604
Max over surface	2873	23700
Principal strain 2		
Mean over surface \pm DS	-170 \pm 150	-400 \pm 160
Min over surface	-1040	-18614
Max over surface	416	3394

Tabella (1) Provino #753, segmento L2-L5: sono riportate per ε_1 ed ε_2 la media delle deformazioni, la deformazione massima locale e minima locale per la vertebra di controllo L3 e la vertebra lesionata L4. È stata considerata una sola condizione di carico: 1BW.

Tabella (2) Provino #773, segmento L1-L3: sono riportate per ε_1 ed ε_2 la media delle deformazioni, la deformazione massima locale e minima locale per la vertebra lesionata L2. Sono state considerate tutte e tre le condizioni di carico: 0.5 BW, 1 BW, 1.5 BW.

Tabella (3) Provino #773, segmento L3-L5: sono riportate per ε_1 ed ε_2 la media delle deformazioni, la deformazione massima locale e minima locale per la vertebra lesionata L4. Sono state considerate tutte e tre le condizioni di carico: 0.5 BW, 1 BW, 1.5 BW.

#773

L1-L3

	L2	0,5 BW (step 19)	1 BW (step 24)	1,5BW (step 26)
Principal strain 1				
Mean over surface \pm DS		40 \pm 110	600 \pm 130	7100 \pm 300
Min over surface		-8654	-2252	-6295
Max over surface		13334	52207	39383
Principal strain 2				
Mean over surface \pm DS		-180 \pm 90	-2760 \pm 130	-4000 \pm 200
Min over surface		-36339	-45504	-49787
Max over surface		473	984	16457

L3-L5

	L4	0,5 BW (step 68)	1 BW (step 21)	1,5BW (step 26)
Principal strain 1				
Mean over surface \pm DS		50 \pm 110	40 \pm 120	-50 \pm 140
Min over surface		-1994	-1767	-5257
Max over surface		8979	9850	28599
Principal strain 2				
Mean over surface \pm DS		-160 \pm 150	-100 \pm 140	-380 \pm 160
Min over surface		-14087	- 6390	- 4138
Max over surface		1095	1097	1905

#775

T9-T12

	0,5 BW (step 16)		1 BW (step 20)	
	T10	T11	T10	T11
Principal strain 1				
Mean over surface \pm DS	300 \pm 200	-890 \pm 150	900 \pm 200	-1020 \pm 160
Min over surface	-2313	-2879	-3885	-3051
Max over surface	5672	8360	11789	12000
Principal strain 2				
Mean over surface \pm DS	-1410 \pm 190	-8990 \pm 180	-2600 \pm 200	-9530 \pm 170
Min over surface	-5817	-67628	-13323	-88044
Max over surface	-116	769	-198	736

Tabella (4) Provino #775, segmento T9-T12: sono riportate per ε_1 ed ε_2 la media delle deformazioni, la deformazione massima locale e minima locale per la vertebra di controllo T10 e per la vertebra lesionata T11. Sono state considerate due delle tre condizioni di carico: 0.5 BW, 1 BW.

T12-L3

	0,5 BW (step 23)		1 BW (step 30)		1,5BW (step 34)	
	L1	L2	L1	L2	L1	L2
Principal strain 1						
Mean over surface \pm DS	-30 \pm 70	20 \pm 90	80 \pm 80	260 \pm 110	90 \pm 90	450 \pm 120
Min over surface	-525	-870	-323	-559	-592	-1406
Max over surface	1357	3417	1080	620	3289	11152
Principal strain 2						
Mean over surface \pm DS	-390 \pm 50	-570 \pm 100	-480 \pm 70	-300 \pm 130	-680 \pm 70	-690 \pm 140
Min over surface	-12139,3	-19311	-1260	-2936	-30211	-39828
Max over surface	18	398	-71	337	270	1124

Tabella (5) Provino #775, segmento T12-L3: sono riportate per ε_1 ed ε_2 la media delle deformazioni, la deformazione massima locale e minima locale per la vertebra di controllo L1 e per la vertebra lesionata L2. Sono state considerate tutte e tre le condizioni di carico: 0.5 BW, 1 BW, 1.5 BW.

#779

T2-T6

	0,5 BW (step 18)			1 BW (step 24)		
	T3	T4	T5	T3	T4	T5
Principal strain 1						
Mean over surface \pm DS	7840 \pm 150	6300 \pm -300	1000 \pm 200	1000 \pm 200	6400 \pm 200	2100 \pm 100
Min over surface	-11126	-37131	-2550	-1907	-20569	-2451
Max over surface	183050	157529	9076	14876	94117	19521
Principal strain 2						
Mean over surface \pm DS	700 \pm 200	-1e+004 \pm 2e+002	-200 \pm 200	-410 \pm 110	-800 \pm 200	0 \pm 190
Min over surface	-169714	-254687	-13113	-13828	-189435	-16455
Max over surface	51375	19137	1857	1317	9888	3012

Tabella (6) Provino #779, segmento T2-T6: sono riportate per ε_1 ed ε_2 la media delle deformazioni, la deformazione massima locale e minima locale per la vertebra di controllo T3 e per le due vertebre lesionata T4, T5. Sono state considerate due delle tre le condizioni di carico: 0.5 BW, 1 BW.

Tabella (7) Provino #779, segmento T7-T10: sono riportate per ε_1 ed ε_2 la media delle deformazioni, la deformazione massima locale e minima locale per la vertebra di controllo T9 e per la vertebra lesionata T8. Sono state considerate tutte e tre le condizioni di carico: 0.5 BW, 1 BW, 1.5 BW.

T7-T10

	0,5 BW (step 19)		1 BW (step 25)		1,5BW (step 29)	
	T8	T9	T8	T9	T8	T9
Principal strain 1						
Mean over surface \pm DS	310 \pm 150	600 \pm 130	830 \pm 160	1570 \pm 160	940 \pm 180	7000 \pm 200
Min over surface	-827	-667	-1516	-333	-2652	-3400
Max over surface	2309	7675	8895	14861	13255	9500
Principal strain 2						
Mean over surface \pm DS	-800 \pm 120	-690 \pm 70	-1450 \pm 130	-1060 \pm 80	-1920 \pm 160	-850 \pm 110
Min over surface	-8171	-3280	-5973	-3214	-13600	-9541
Max over surface	447	569	124	162	441	2100

#784

T6-T9

	0,5 BW (step 35)		1 BW (step 65)	
	T7	T8	T7	T8
Principal strain 1				
Mean over surface \pm DS	110 \pm 100	-10 \pm 120	50 \pm 120	-10 \pm 150
Min over surface	-1924	-651	-370	-431
Max over surface	9249	1237	2050	1051
Principal strain 2				
Mean over surface \pm DS	-1080 \pm 70	-240 \pm 120	-460 \pm 80	-360 \pm 140
Min over surface	-16819	-3426	-4417	-2866
Max over surface	826	248	-177	287

Tabella (8) Provino #784, segmento T6-T9: sono riportate per ε_1 ed ε_2 la media delle deformazioni, la deformazione massima locale e minima locale per la vertebra di controllo T7 e per la vertebra lesionata T8. Sono state considerate due delle tre le condizioni di carico: 0.5 BW, 1 BW.

Tabella (9) Provino #785, segmento T4-T8: sono riportate per ε_1 ed ε_2 la media delle deformazioni, la deformazione massima locale e minima locale per la vertebra di controllo T7 e per le due vertebre lesionate T5, T6. Sono state considerate tutte e tre le condizioni di carico: 0.5 BW, 1 BW, 1.5 BW.

#785

T4-T8

	0,5 BW (step 20)			1 BW (step 41)			1,5BW (step 36)		
	T5	T6	T7	T5	T6	T7	T5	T6	T7
Principal strain 1									
Mean over surface \pm DS	530 \pm 190	300 \pm 200	70 \pm 180	500 \pm 200	400 \pm 300	300 \pm 300	2300 \pm 300	200 \pm 300	500 \pm 300
Min over surface	-149	-13	-81	-66	6	-398	-77	-627	131
Max over surface	11037	2628	715	1359	2116	5681	26706,6	880	1440
Principal strain 2									
Mean over surface \pm DS	-1210 \pm 150	-1100 \pm 200	-460 \pm 130	0 \pm 200	-600 \pm 200	-600 \pm 200	200 \pm 300	-800 \pm 200	-900 \pm 200
Min over surface	-12848	-8119	-2522	-835	-1883	-3968	-14783	-1842	-2293
Max over surface	258	6	-41	399	181	174	1395	72	338

Deformazioni normalizzate rispetto alla vertebra sana

	Deformazioni	Principali	Massime	Deformazioni	Principali	Minime
	0,5BW	1BW	1,5BW	0,5BW	1BW	1,5BW
753→L2-L5	/	0,27	/	/	-1,70	/
773→L1-L3	/	/	/	/	/	/
773→L3-L5	/	/	/	/	/	/
775→T9-T12	-2,96	1,13	/	-6,38	3,67	/
775→T12-L3	-0,67	3,25	5,00	1,46	0,63	1,00
779→T2-T6	0,80	20,00	/	14,29	97,56	/
	0,13	2,10	/	-0,29	0,00	/
779→T7-T10	0,52	0,53	0,13	1,16	1,37	2,26
784→T6-T9	-0,09	-0,20	/	0,22	0,78	/
785→T4-T8	7,57	1,67	4,6	2,63	0,00	-0,22
	2,14	1,33	0,33	2,50	0,86	0,67

Tabella (10) Deformazioni normalizzate rispetto alla vertebra sana: per ciascun segmento testato è stato calcolato il rapporto del valor medio, sia per la deformazione principale massima (ε_1) che minima (ε_2), misurato sulla vertebra con metastasi rispetto alla sua vertebra di controllo (vertebra dello stesso segmento senza metastasi, se presente). I valori mancanti sono contrassegnati da “/”.

3.3 Confronto tra i valori clinici e i valori ingegneristici

Con i dati ottenuti, è stato possibile confrontare i valori clinici (SINS) di ogni provino testato con i valori ingegneristici, in particolare con il rapporto del valor medio, sia per la deformazione principale massima (ε_1) che minima (ε_2), misurato sulla vertebra con metastasi rispetto alla sua vertebra di controllo (vertebra dello stesso segmento senza metastasi, se presente). I grafici seguenti sottolineano la mancata connessione tra SINS e validazioni sperimentali biomeccaniche, sia per la deformazione principale massima (ε_1) che minima (ε_2) **(Fig.10) (Fig.11)**. La retta di interpolazione di ciascun grafico, rivela che il rapporto tra i valori clinici e ingegneristici è fortemente non lineare. Quindi, i parametri clinici che determinano il SINS non possono essere considerati sufficienti per indicare correttamente la correlazione del rischio di rottura vertebrale con la condizione meccanica.

- **Deformazioni Principali Massime**

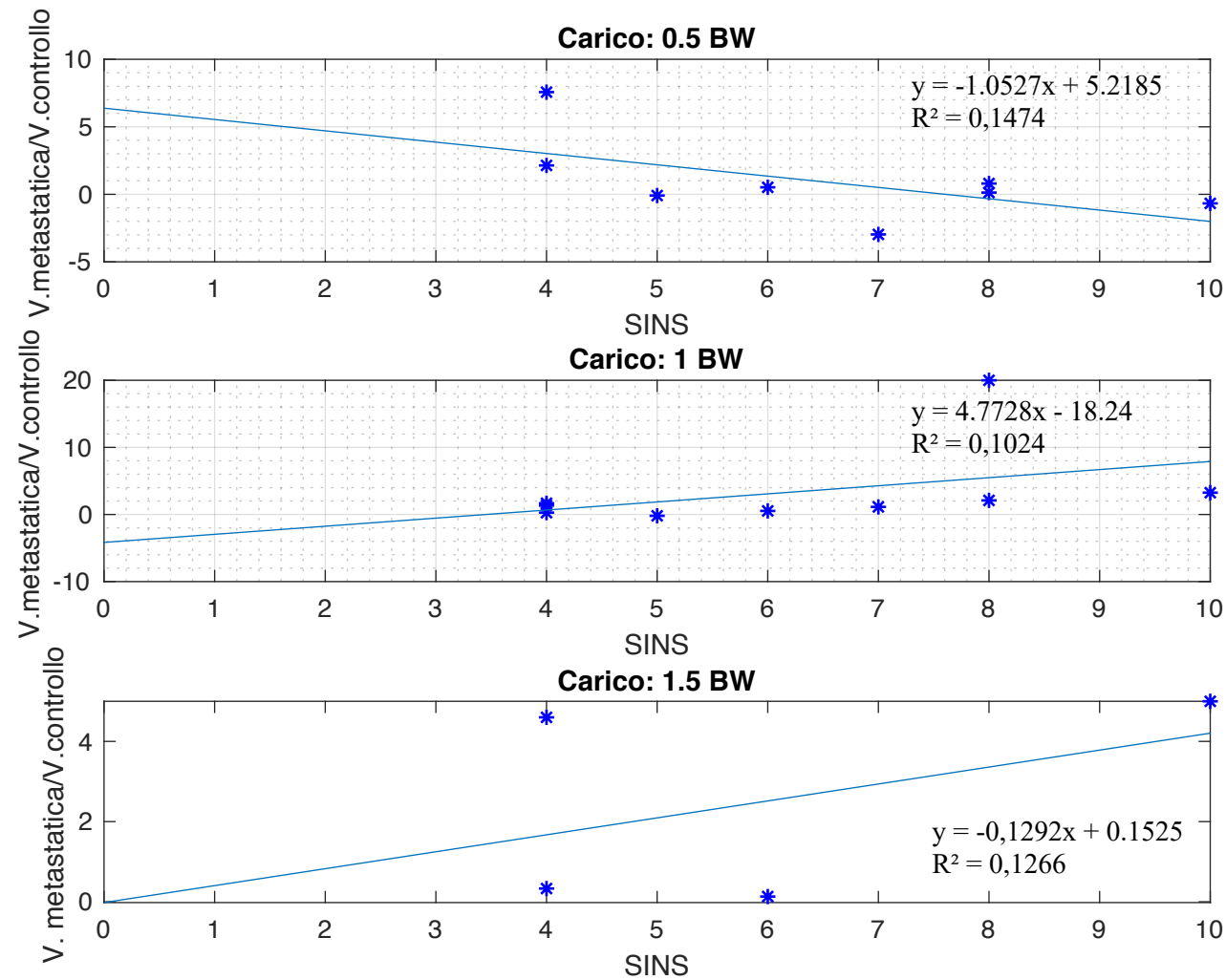


Fig. (10) Grafici di confronto per le tre condizioni di carico tra: i valori clinici (SINS) di ogni provino testato con i valori ingegneristici, in particolare con il rapporto del valor medio, per la deformazione principale minima (ϵ_2), misurato sulla vertebra con metastasi rispetto alla sua vertebra di controllo. Vengono considerate le Deformazioni principali Massime. Retta di interpolazione: retta che sottolinea la ridotta correlazione tra SINS e valori ingegneristici.

- **Deformazioni Principali Minime**

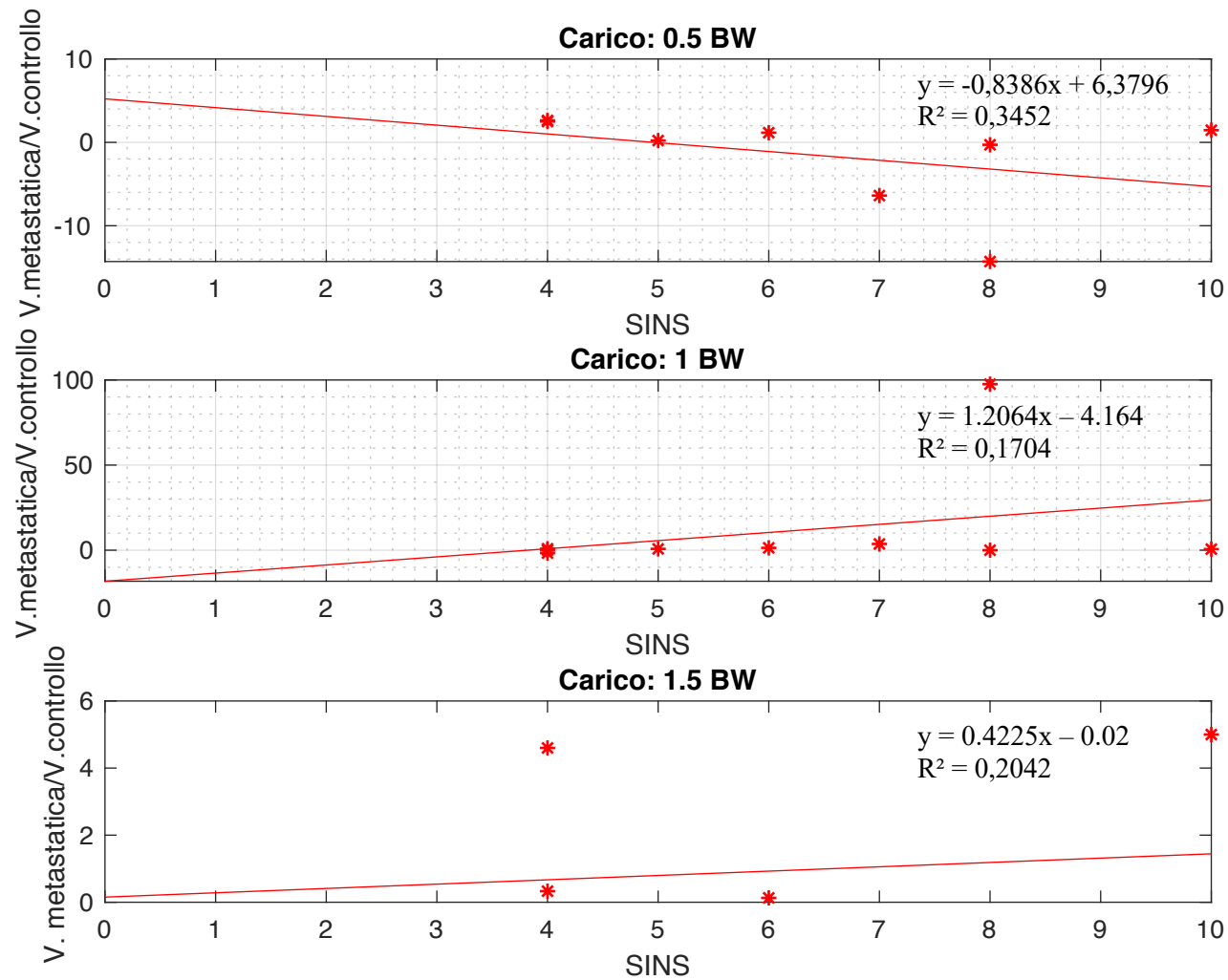


Fig. (11) Grafici di confronto per le tre condizioni di carico tra: i valori clinici (SINS) di ogni provino testato con i valori ingegneristici, in particolare con il rapporto del valor medio, per la deformazione principale minima (ϵ_2), misurato sulla vertebra con metastasi rispetto alla sua vertebra di controllo. Vengono considerate le Deformazioni principali Minime. Retta di interpolazione: retta che sottolinea la ridotta correlazione tra SINS e valori ingegneristici.

CAPITOLO IV

Discussione

Le lesioni metastatiche della colonna vertebrale espongono i pazienti ad un alto rischio di fallimento vertebrale (Alkalay and Harrigan, 2016), è perciò fondamentale sapere come trattarle. Per tale motivo, l'obiettivo di questo lavoro di tesi, come già anticipato, è volto a fondare le basi ad un approccio che possa collaborare in parallelo con il Spinal Instability Neoplastic Score (SINS), attualmente incompleto, affinché si possano definire linee guida chiare e dirette che direzionino correttamente i clinici verso la scelta di una possibile stabilizzazione chirurgica dei pazienti con metastasi spinali. L'analisi si concentra su situazioni metastatiche considerate "indeterminate" dal SINS (score: [6-12]).

In particolare, nel lavoro svolto è stata eseguita una caratterizzazione meccanica che mostra lo stato di sollecitazione della vertebra (o di due vertebre) con metastasi in caso di SINS "indeterminato" [6-12] rispetto al suo (loro) controllo adiacente (vertebra sana).

Sono stati testati 9 segmenti vertebrali di 6 cadaveri umani provenienti da Anatomy Gift Register (AGR, Hanover, MD) tramite una procedura approvata dal comitato etico (protocollo 17325 dell'8 Febbraio 2019). La preparazione dei provini e il successivo allineamento hanno garantito buoni risultati dai test meccanici. I test meccanici hanno messo in risalto come la distribuzione delle deformazioni sulla superficie anteriore del corpo vertebrale sia fortemente influenzata dalla presenza della (delle) lesione (lesioni) metastatica (metastatiche) osteolitica, osteoblastica o mista. Nello specifico, attraverso la Digital Imaging Correlation (DIC) è stato verificato qualitativamente come varia la distribuzione delle deformazioni e dove si trovino i picchi di deformazione sulla superficie anteriore del corpo vertebrale sano (senza metastasi) o lesionato (con metastasi) sotto diverse condizioni di carico, i quali a loro volta sono stati scelti in modo da poter essere confrontabili, in linea con il *protocollo* in appendice.

Oltre ad una prima analisi qualitativa, le prove meccaniche hanno permesso di quantificare il valore medio di deformazione (\pm la Deviazione Standard, DS), il valore minimo di deformazione, il valore massimo di deformazione, sia per le deformazioni principali massime (ϵ_1), che per le deformazioni principali minime (ϵ_2). In seguito, le deformazioni nella vertebra con metastasi sono state normalizzate rispetto alla vertebra sana, ovvero, il rapporto del valor medio, sia per la deformazione principale massima (ϵ_1) che minima (ϵ_2), misurato sulla vertebra con metastasi rispetto alla sua vertebra di controllo (vertebra dello stesso segmento senza metastasi, se presente).

Per le condizioni di controllo (vertebre sane), i picchi di deformazione risultano essere di bassa entità ed i relativi gradienti sono molto contenuti sia per le deformazioni principali massime che minime. Il valore di deformazione media raggiunge in trazione un valore pari a $784\mu\epsilon \pm 140$, in compressione $-2600 \mu\epsilon \pm 200$.

Relativamente alle vertebre con metastasi invece, è stato riscontrato che il pattern di deformazione ha un comportamento significativamente differente rispetto a quello delle precedenti vertebre di controllo. Infatti, la distribuzione delle deformazioni cambia in modo considerevole in presenza dei difetti metastatici dove, la distribuzione delle deformazioni diventa altamente non omogenea e concentrata in alcune aree. In queste condizioni, le medie delle deformazioni raggiungono valori di $7100 \mu\epsilon \pm 300$ in trazione e $-9530 \mu\epsilon \pm 170$ in compressione. Questi valori si avvicinano alle deformazioni di rottura ossea che risultano essere in tensione $6200 \mu\epsilon \pm 400$ ($\pm DS$) e $7300 \mu\epsilon \pm 500$ ($\pm DS$) rispettivamente per il tessuto trabecolare e corticale, mentre, in compressione $10400 \mu\epsilon \pm 1500$ ($\pm DS$) relativamente al tessuto trabecolare (per il tessuto corticale non è stato calcolato) (Bayraktar et al. 2004, n.d.). In generale, è stato osservato un aumento maggiore della ϵ_{min} , (ϵ_2), piuttosto che della ϵ_{max} , (ϵ_1).

In corrispondenza delle regioni di massima concentrazione di deformazioni i valori di deformazione massima e minima sono $+39383 \mu\epsilon$ e $-6295 \mu\epsilon$ in trazione e $+736 \mu\epsilon$ e $-88044 \mu\epsilon$ in compressione.

L'analisi qualitativa della distribuzione delle deformazioni mediante DIC ha rilevato che, nelle condizioni di vertebre sane, la distribuzione della deformazione sulla superficie ossea è relativamente omogenea. Tale affermazione è stata supportata anche da evidenze quantitative, infatti, estensimetri virtuali, permessi dall'algoritmo DIC e posizionati nel corpo vertebrale, hanno garantito con valori numerici la consolidazione di ciò appena riportato. Il lavoro dunque, si rivela in contrasto con alcuni risultati precedenti (Costa et al., 2019), ma in linea con altri (Alkalay and Harrigan, 2016), (Alkalay, 2015), (Palanca et al., 2018).

Infatti, nel 2015 Alkalay, attraverso uno studio sperimentale sostenne che, la presenza di lesioni litiche simulate sull'osso vertebrale definiscano una significativa riduzione della rigidità assiale vertebrale e della capacità vertebrale di resistere alla compressione applicata, implicando quindi un aumento consistente delle deformazioni in corrispondenza delle zone lesionate.

Un anno più tardi, la pubblicazione di Alkalay e Harrigan, verificò ciò che Alkalay aveva presupposto precedentemente. L'articolo del 2016 infatti riporta che, la simulazione di una lesione osteolitica a livello dell'ultima vertebra toracica comporti una grave perdita della competenza strutturale vertebrale, con conseguente aumento significativo e non lineare delle deformazioni

misurate sperimentalmente. In particolare, le deformazioni a trazione si rivelarono in significativo aumento, mentre le deformazioni a compressione risultarono in diminuzione.

Inoltre, nel 2018 il Journal of Biomechanical Engineering riportò un articolo pubblicato da M. Palanca, G. Barbanti-Bròdano e L. Cristofolini, con l'obiettivo di verificare l'influenza di lesioni osteolitiche simulate di varia grandezza, sulla distribuzione delle deformazioni misurate mediante DIC. Attraverso le mappe di deformazioni a tutto campo calcolate per 5 segmenti vertebrali toracici sottoposti a diversi carichi, gli autori dell'articolo hanno potuto affermare che, la media delle deformazioni aumenta considerevolmente con la dimensione della lesione simulata, in particolare esse diventano critiche con una lesione superiore al 30% del volume del corpo vertebrale.

In contrasto con la precedente letteratura, Costa et al. nel 2019 in un'analisi agli elementi finiti, condotta su 8 pazienti con lesione metastatica litica a livello toraco-lombare (SINS indeterminato) verificò che, solo in 3 segmenti vertebrali di pazienti diversi le vertebre metastatiche risultavano meccanicamente più deboli rispetto ai loro controlli (vertebre sane). Questo lavoro implica quindi, una distribuzione delle deformazioni prevalentemente simile tra vertebre lesionate e vertebre sane.

Mentre, l'analisi quantitativa ha messo in luce la mancata correlazione tra SINS e validazioni biomeccaniche. Il confronto tra valori ingegneristici, ovvero la normalizzazione delle deformazioni nella vertebra con metastasi rispetto alla vertebra sana, e valori clinici, quindi SINS, ha rilevato una relazione fortemente non lineare facilmente osservabile attraverso i grafici (*"Confronto tra i valori clinici e i valori ingegneristici"* nei risultati). È fondamentale sottolineare che i parametri clinici che determinano il SINS non possano essere considerati sufficienti per indicare correttamente la correlazione del rischio di rottura vertebrale con la condizione meccanica.

Nonostante le diverse affermazioni e considerazioni dei lavori precedenti, è riconosciuto dall'intera comunità scientifica, che sia ancora consistente la mancanza di informazioni per la corretta e completa valutazione del rischio di frattura in caso di metastasi ossee. L'analisi conseguita in questo lavoro di tesi, riporta risultati consistenti che si propongono come punto di partenza per un nuovo approccio per la valutazione degli effetti causati da lesioni metastatiche sulla base di mappe di deformazioni a tutto campo. Tuttavia, diverse sono le condizioni che limitano questo iniziale approccio, ovvero le seguenti: il numero di provini testati è ridotto (9), nonostante si riveli sufficiente affinché sia verificata l'assenza di relazione tra SINS e validazioni meccaniche; le condizioni di carico utilizzate (0.5 BW, 1 BW, 1.5 BW), descritte nel *protocollo* in appendice, sono condizioni semplificative, non strettamente fisiologiche, ma comunque valide

per garantire un confronto tra vertebre malate e vertebre sane (di controllo). Infine, l'analisi è stata conseguita sulla superficie anteriore del corpo vertebrale del provino, area maggiormente resistente della vertebra e che supporta buona parte del carico.

Dunque, è possibile affermare che ulteriori studi siano necessari affinché sia definibile un criterio clinico rilevante per determinare corrette e complete linee guida per la scelta di una possibile stabilizzazione chirurgica dei pazienti con metastasi spinali.

CAPITOLO V

Conclusione

In questo lavoro di tesi sono stati valutati gli effetti delle lesioni metastatiche spinali (lesioni osteolitiche, osteoblastiche e miste) di nove segmenti di rachidi umani. Nello specifico, ogni segmento è stato scelto con almeno una e al massimo tre vertebre con lesione metastatica dal SINS indeterminato (6-12) e al più una vertebra sana utilizzata come controllo. Attraverso le prove meccaniche ogni segmento è stato valutato per tre condizioni di carico, purché non andasse incontro a lesione, scelte in modo da poter essere confrontabili, come descritto nel *protocollo* in appendice. Quindi, sono state calcolate, per ciascun segmento vertebrale e per ciascuna condizione di carico, le mappe di deformazioni a tutto campo della superficie anteriore del corpo vertebrale mediante l'algoritmo DIC. La DIC ha permesso oltre che un'analisi qualitativa, che ha sottolineato attraverso immagini l'influenza della lesione metastatica sulla distribuzione delle deformazioni, anche un'analisi quantitativa che ha consentito un confronto tra valori ingegneristici e valori clinici, in particolare tra il rapporto del valor medio, sia per la deformazione principale massima (ε_1) che minima (ε_2), misurato sulla vertebra con metastasi rispetto alla sua vertebra di controllo (vertebra dello stesso segmento senza metastasi, se presente) e il SINS.

Il progetto si pone l'obiettivo di eseguire una caratterizzazione meccanica che mostri lo stato di sollecitazione della vertebra (o di due vertebre) con metastasi rispetto al suo (loro) controllo adiacente. È bene ricordare che un'alta percentuale, approssimativamente il 70%, dei pazienti effetti da cancro ha evidenze metastatiche al momento della morte ed il coinvolgimento spinale si può verificare fino al 40% dei pazienti soggetti a cancro. Attualmente i clinici basano la loro scelta su un protocollo chiamato SINS, fondato sull'analisi di sei parametri: *Posizione della metastasi*, *Dolore meccanico*, *Qualità della lesione ossea*, *Allineamento spinale*, *Collasso del corpo vertebrale*, *Coinvolgimento degli elementi postero-laterali*. Il protocollo clinico si rileva incompleto, in quanto non valido per quelle casistiche definite "indeterminate" (SINS: 6-12), le situazioni più frequenti, ed inoltre, non poggia su validazioni sperimentali che garantiscano la sua veridicità.

In conclusione, l'analisi qualitativa della distribuzione delle deformazioni mediante DIC ha rilevato che, nelle condizioni di vertebre sane, la distribuzione della deformazione sulla superficie ossea è relativamente omogenea. Al contrario, la distribuzione delle deformazioni cambia in modo considerevole in presenza dei difetti metastatici dove, la distribuzione delle deformazioni diventa

altamente non omogenea e concentrata in alcune aree. È quindi possibile affermare che si può ricavare un misurabile così da definire una metrica. Mentre, mediante l'analisi quantitativa la mancata correlazione tra SINS e validazioni biomeccaniche è stata evidenziata.

Quindi, le mappe di deformazioni a tutto campo e il confronto tra i valori ingegneristici e clinici hanno portato a confermare la limitata veridicità del SINS. Questo studio ha incoraggiato a rivalutare i parametri che definiscono il SINS e integrarli con quelli biomeccanici.

Allegato A

- Protocollo -

- **Provini:** 21 colonne vertebrali;
- **Clinical CT:** viene utilizzato il protocollo scanner Viceconti;
- **Identificazione delle vertebre rilevanti:** l'identificazione si basa prevalentemente su due fattori:
 1. *Il tipo di metastasi* → quindi la differenziazione tra metastasi litica, blastica o mista. Un maggiore interesse è volto alle metastasi litiche;
 2. *SINS score* → l'intervallo relativo ad un SINS indeterminato è tra 6 e 12, senza considerare il dolore. Infatti, si ricerca un range oggettivo e per questo motivo risulta essere più adeguato considerare un intervallo compreso tra 3 e 12.

Ipotesi: vengono considerate le condizioni estreme, dove:

SINS 6 → rispecchia un SINS 6 con dolore pari a 3 (perciò, un SINS obiettivo è equivalente a 3);

SINS 12 → rispecchia un SINS 12 con dolore pari a 0.

→ SINS INDETERMINATO: [3-12]. Non viene trattato il dolore (parametro soggettivo), in linea con l'obiettivo di ottenere solo parametri oggettivi.

Osservazione: se un tratto vertebrale presentasse più vertebre con lo stesso SINS score, allora la vertebra con lesione litica risulterebbe essere preferita. Viene seguito infatti un ordine di importanza, che prevede: metastasi osteolitiche (maggiormente importanti), miste e metastasi osteoblastiche (meno importanti).

- **Preparazione del provino:** vengono distinti 3 casi, ognuno è associato ad una preparazione differente.
 1. *Caso* → la colonna vertebrale è completamente metastatica. Vengono considerate 3 vertebre, nessuna di queste funge da controllo. Alcune viti da legno (solitamente 3), sono quindi posizionate sugli estremi in modo da aumentare il fissaggio durante l'allineamento (**Fig.1a**).
 2. *Caso* → il segmento considerato presenta: una vertebra metastatica, una di controllo e due vertebre esterne (solitamente non presentano lesioni). Alcune viti da legno (tipicamente 3), sono quindi posizionate sugli estremi in modo da aumentare il fissaggio durante l'allineamento (**Fig.2a**).

3. *Caso* → è un caso da verificare. L'attenzione è volta a 2 vertebre metastatiche adiacenti. Vengono qui considerate 2 vertebre metastatiche, una di controllo e due metà vertebrali esterne. Alcune viti da legno (solitamente 3), sono quindi posizionate sugli estremi in modo da aumentare il fissaggio durante l'allineamento.

- Se le 2 vertebre metastatiche sono uguali, allora si torna al Caso 2;
- Se le 2 vertebre metastatiche sono diverse, allora si considera il Caso 3 (**Fig.3a**).

Osservazione: è da verificare la metastasi con presenza di capsula ossea (provino #779).

- **Taglio:** le 2 vertebre esterne vengono tagliate a metà rispetto l'altezza del corpo. Il taglio quindi segue la forma e la geometria della vertebra.
- **Allineamento:** le vertebre esterne possono essere danneggiate durante il taglio, quindi, alcune informazioni di allineamento possono essere perse. In questo studio, l'allineamento si concentra sul corpo vertebrale. È bene distinguere per i 3 casi distinti precedentemente, 3 casi diversi anche per l'allineamento.
 1. *Caso* → si allinea la vertebra B (**Fig.1b**);
 2. *Caso* → si allineano le vertebre B e C (**Fig.2b**);
 3. *Caso* → si allineano le vertebre B e D (**Fig.3b**).

Perché: in questo modo si hanno segmenti lunghi, quindi è più facile allinearli.

Piani di allineamento: prima si allinea il piano frontale, successivamente il piano laterale ed infine quello sagittale.

Come procedere: vengono dedotti i punti per l'allineamento (punto dx e sx del corpo vertebrale, punto cradiale e caudale, punto anteriore e posteriore) dalla CT scan e successivamente alla loro misura avviene l'allineamento.

- **Fissaggio:** vengono considerati due pot diversi e paralleli al piano assiale. Sono stati classificati 3 modi per il fissaggio in coerenza con i tre casi di studio:
 1. *Caso* → il pot deve essere centrato rispetto alla vertebra B;
 2. *Caso* → il pot deve essere centrato rispetto al disco tra B e C;
 3. *Caso* → il pot deve essere centrato rispetto alla vertebra C.

- **Carico del provino nei test meccanici:** è fondamentale che il disco funzioni bene e che diffonda il carico su tutto il corpo vertebrale. Una media pesata del corpo vertebrale può essere di aiuto per capire dove si trovi il centro del corpo vertebrale. È utile determinare un offset anteriore pari al 10% (o 5%) della distanza tra il punto anteriore e quello posteriore (nel Caso 2, viene considerato il disco). È importante che le slitte sugli assi “x” e “y” siano bloccate, così da evitare movimenti eccessivi del provino sul piano d’appoggio.

Tipologie di carico: l’obiettivo del nostro lavoro è fare test comparabili e verificare la deformazione della zona metastatica. Le ipotesi considerano la determinazione di un grafico real-time, che permetta di verificare nel tempo come la vertebra si deforma in relazione a 3 diversi carichi. I carichi considerati sono:

- 0,5 Body Weight;
- 1 Body Weight;
- 1,5 Body Weight.

L’idea è quella di mostrare una vista frontale e laterale per una ricostruzione più ampia delle deformaizoni della vertebra stessa.

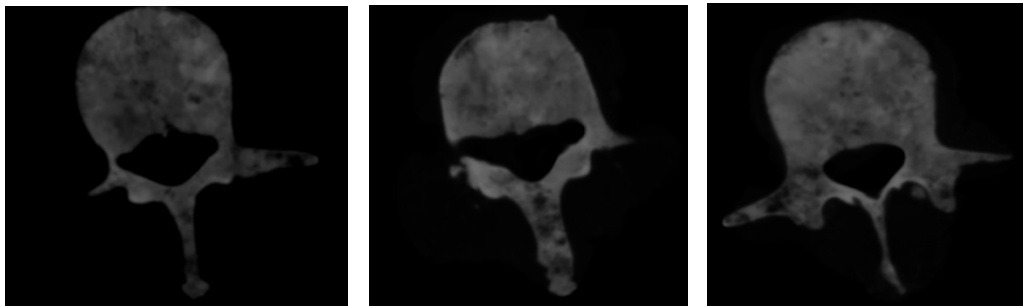


Fig. (1a) *Caso 1: Colonna vertebrale completamente metastatica. Le 3 vertebre sono caratterizzate da lesioni osteolitiche, non c’è alcun controllo.*

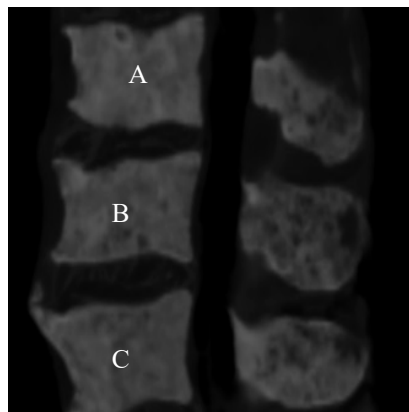


Fig. (1b) *Caso 1: Segmento vertebrale metastatico completo.*

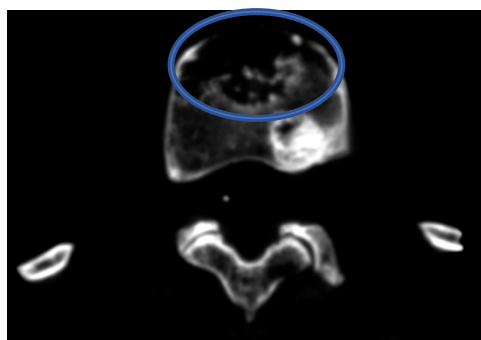
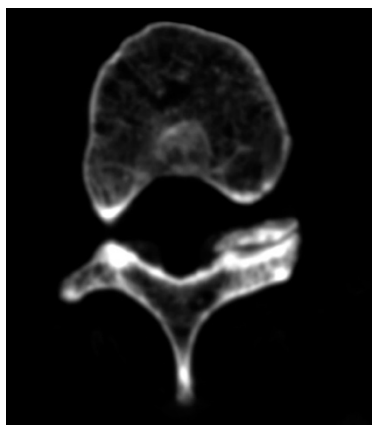


Fig. (2a) Caso 2: a sx vertebra di controllo, a dx vertebra metastatica (osteolitica).

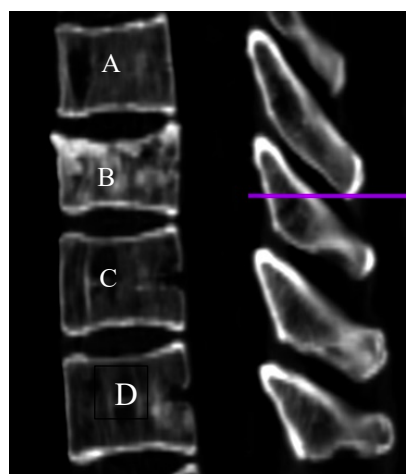


Fig. (2b) Caso 2: Segmento vertebrale completo.

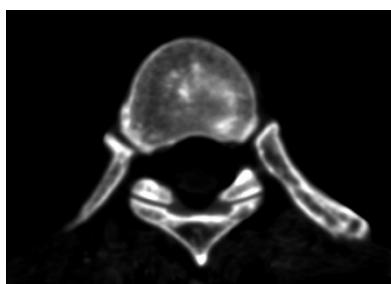
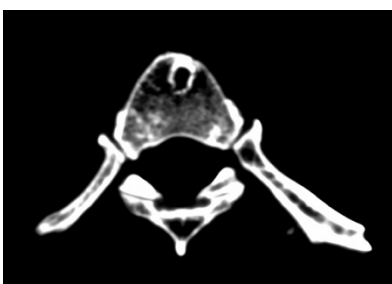
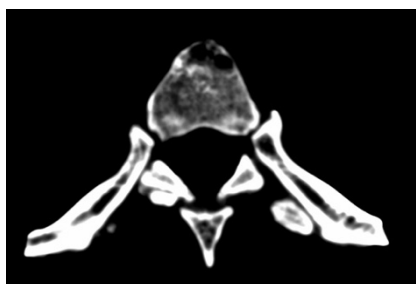


Fig. (3a) Caso 3: due vertebre con metastasi osteolitiche adiacenti (a sx e in centro) e una vertebra di controllo (a dx). In questo particolare esempio, la vertebra centrale presenta una capsula ossea.

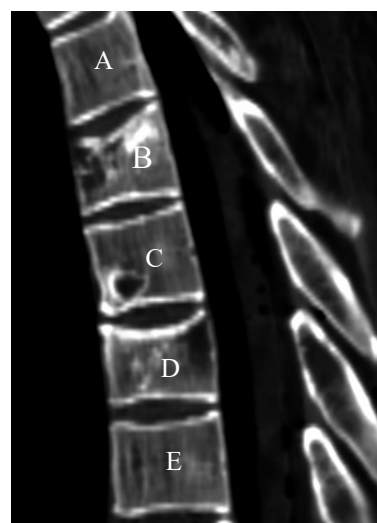


Fig. (3b) Caso 3: Segmento vertebrale completo.

Bibliografia

Alkalay, R.N., 2015. Effect of the metastatic defect on the structural response and failure process of human vertebrae: An experimental study. *Clinical Biomechanics* 30, 121–128.

<https://doi.org/10.1016/j.clinbiomech.2014.10.001>

Alkalay, R.N., Harrigan, T.P., 2016. Mechanical assessment of the effects of metastatic lytic defect on the structural response of human thoracolumbar spine: EFFECT OF CRITICAL LYTIC DEFECT. *J. Orthop. Res.* 34, 1808–1819. <https://doi.org/10.1002/jor.23154>

Bayraktar et al. 2004, n.d. Comparison of the elastic and yield properties of human femoral trabecular and cortical bone tissue.

Botelho, R.V., de Oliveira, M.F., Rotta, J.M., 2013. Quantification of Vertebral Involvement in Metastatic Spinal Disease. *TOORTHJ* 7, 286–291.

<https://doi.org/10.2174/1874325001307010286>

Costa, M.C., Eltes, P., Lazary, A., Varga, P.P., Viceconti, M., Dall'Ara, E., 2019. Biomechanical assessment of vertebrae with lytic metastases with subject-specific finite element models. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* 98, 268–290.

<https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2019.06.027>

Dall'ara et al. 2010, n.d. A nonlinear finite element model validation study based on a novel experimental technique for inducing anterior wedge-shape fractures in human vertebral bodies in vitro.

Danesi, V., Zani, L., Scheele, A., Berra, F., Cristofolini, L., 2014. Reproducible reference frame for in vitro testing of the human vertebrae. *Journal of Biomechanics* 47, 313–318.

<https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2013.10.005>

David, R.G., 2004. Mechanisms of Bone Metastasis. *The New England Journal of Medicine* 10.

Fisher, C.G., DiPaola, C.P., Ryken, T.C., Bilsky, M.H., Shaffrey, C.I., Berven, S.H., Harrop, J.S., Fehlings, M.G., Boriani, S., Chou, D., Schmidt, M.H., Polly, D.W., Biagini, R., Burch, S., Dekutoski, M.B., Ganju, A., Gerszten, P.C., Gokaslan, Z.L., Groff, M.W., Liebsch, N.J., Mendel, E., Okuno, S.H., Patel, S., Rhines, L.D., Rose, P.S., Sciubba, D.M., Sundaresan, N., Tomita, K., Varga, P.P., Vialle, L.R., Vrionis, F.D., Yamada, Y., Fourny, D.R., 2010. A Novel Classification System for Spinal Instability in Neoplastic Disease: An Evidence-Based Approach and Expert Consensus From the Spine Oncology Study Group. *Spine* 35, E1221–E1229.

<https://doi.org/10.1097/BRS.0b013e3181e16ae2>

Georgy, B.A., 2008. Metastatic Spinal Lesions: State-of-the-Art Treatment Options and Future Trends. *AJNR Am J Neuroradiol* 29, 1605–1611. <https://doi.org/10.3174/ajnr.A1137>

<https://www.airc.it/cancro/formazioni-tumori/cose-il-cancro/metastasi>, n.d.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3773069/>, n.d.

[https://www.news-medical.net/health/What-is-Metastasis-\(Italian\).aspx](https://www.news-medical.net/health/What-is-Metastasis-(Italian).aspx), n.d.

Klimo, P., Schmidt, M.H., n.d. Surgical Management of Spinal Metastases 9.

Laufer, I., Rubin, D.G., Lis, E., Cox, B.W., Stubblefield, M.D., Yamada, Y., Bilsky, M.H., 2013. The NOMS Framework: Approach to the Treatment of Spinal Metastatic Tumors. *The Oncologist* 18, 744–751. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2012-0293>

Lionello et al. 2014, n.d. A practical approach to optimizing the preparation of speckle patterns for digital-image correlation.

Lionello et al. 2014, n.d. An effective procedure to create a speckle pattern on biological soft tissue for digital image correlation measurements.

Milano, A., Stucci, S.L., Strippoli, S., Silvestris, F., 2010. Le metastasi ossee: aspetti patogenetici e clinici. *biochimica clinica* 34, 8.

Palanca et al 2015;, n.d. Sutton et al 2009 Image Correlation for Shape, Motion and Deformation Measurements.

Palanca et al. 2018, n.d. Full-field strain distribution in multi-vertebra spine segments: an in-vitro application of DIC.

Palanca, M., Barbanti-Bròdano, G., Cristofolini, L., 2018. The Size of Simulated Lytic Metastases Affects the Strain Distribution on the Anterior Surface of the Vertebra. *J Biomech Eng* 140, 111005. <https://doi.org/10.1115/1.4040587>

Palanca, M., Tozzi, G., Cristofolini, L., 2016. The use of digital image correlation in the biomechanical area: a review. *International Biomechanics* 3, 1–21.

<https://doi.org/10.1080/23335432.2015.1117395>

PhD, H.J.W., n.d. Predicting Failure of Thoracic Vertebrae With Simulated and Actual Metastatic Defects.

Silva, M.J., Hipp, J.A., McGowan, D.P., Takeuchi, T., Hayes, W.C., 1993. Strength reductions of thoracic vertebrae in the presence of transcortical osseous defects: effects of defect location, pedicle disruption, and defect size. *Eur Spine J* 2, 118–125. <https://doi.org/10.1007/BF00301407>

Taneichi, H., Kaneda, K., Takeda, N., Abumi, K., Satoh, S., 1997. Risk Factors and Probability of Vertebral Body Collapse in Metastases of the Thoracic and Lumbar Spine: *Spine* 22, 239–245. <https://doi.org/10.1097/00007632-199702010-00002>

Tschirhart, C.E., Finkelstein, J.A., Whyne, C.M., 2007. Biomechanics of vertebral level, geometry, and transcortical tumors in the metastatic spine. *Journal of Biomechanics* 40, 46–54. <https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2005.11.014>

Tschirhart, C.E., Nagpurkar, A., Whyne, C.M., 2004. Effects of tumor location, shape and surface serration on burst fracture risk in the metastatic spine. *Journal of Biomechanics* 37, 653–660. <https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2003.09.027>

Whyne, C.M., Hu, S.S., 2001. Parametric finite element analysis of vertebral bodies affected by

tumors. Journal of Biomechanics 8.

Ringraziamenti

Questa laurea la vedo come la mia prima grande conquista. Vorrei iniziare scrivendo tre parole: “Mi sento fortunata”. Perché ho saputo credere in me, perché ho pensato fino alla fine di potercela fare...arrivare in fondo non è così scontato.

In una finestra di tre anni molti scenari si sono sovrapposti, molti personaggi si sono alternati, ma soprattutto un groviglio di emozioni, pensieri e obiettivi si è fatto strada. “Mi sento fortunata” per aver vissuto delle situazioni che, anche se dolorose, mi hanno dato una spinta a crescere, o per aver vissuto momenti indimenticabilmente magici.

“Mi sento fortunata” per essermi bevuta un (o più) calice di vino bianco secco con le mie amiche, i miei punti di riferimento.

“Mi sento fortunata” per il nostro angolo di paradiso a Pinarella di Cervia dove i migliori ricordi giacciono e dove le onde del mare echeggiano per tutto il lungo inverno.

“Mi sento fortunata” per tutte le grigliate, per le vigilie di Natale e per le serate fatte con gli imolesi e i mordanesi.

“Mi sento fortunata” per aver mangiato I tortelli burro e salvia in ogni occasione speciale... dopo gli esami, dopo allenamento, dopo una serata, la domenica a pranzo...con loro, con le persone che con un sorriso sanno aprire il loro cuore, i nonni.

“Mi sento fortuna” per avere una passione. Non saprei da dove partire per descrivere la Thai, come dire... è “solo” una passione. In palestra non importa più l’università, o le paure, o i mille problemi... ci sono solo i guantoni e un mondo che si apre e che dà il benvenuto. Ho imparato molto dai miei allenatori e dai miei compagni di botte e stronzate. È probabilmente da questo ambiente che è nata la mia voglia di non arrendermi, di continuare senza cedere.

“Mi sento fortunata” per aver viaggiato, per essermi arricchita di colori e luci diverse, per aver condiviso momenti e tramonti che porterò nel cuore, per avere incontrato persone totalmente diverse da me e culture lontane dalla nostra... e per poi pensare che l’Italia è stupenda.

“Mi sento fortunata” per aver vissuto il calore e il profumo della Romagna... e chi si scorda di quella fiorita casetta tra le vigne di Sangiovese.

“Mi sento fortunata” per coloro che hanno cercato di insegnarmi a cucinare qualcosa di diverso dalla pasta in bianco (pur, ovviamente, fallendo), che con la loro gentilezza mi han fatto ricredere nelle persone e che hanno reso divertente e familiare l’appartamento in via Zuccherificio.

“Mi sento fortunata” per aver saputo imparare dalla mia famiglia...

“Mi sento fortunata” per aver scelto con un certo livello di spensieratezza ed ingenuità questa Ingegneria, ed essermi seduta quel secondo giorno davanti a quella chiassosa, stramba e dolce persona che ora sta per diventare la mia coinquilina a Milano. “Mi sento fortunata” perché le

persone attorno a me, con cui ho condiviso appunti e pranzi al sacco (o alla coop), mi hanno spronato a far meglio.

“Mi sento fortunata” per aver avuto abbastanza *tenacità* da chiedere al Professore Luca Cristofolini di essere il mio relatore, dopo essermi fatta ritirare il compito durante un esame (o quasi due), o per aver omesso una “h” in una mail al mio correlatore, il Professor Marco Palanca, prima di sostenere l’esame orale. “Mi sento fortunata” per aver partecipato al mio primo progetto scientifico in laboratorio ed essermi fatta influenzare di curiosità e precisione dai Professori che mi hanno seguito.

... *Mi sento fortunata.*